

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma longa* L), DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*  
Ruiz & Pav) DAN KOMBINASINYA TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**OLEH :**

**VEGA LACERTA VENUSIA AURIGA ERIDA  
17141057B**

**PROGRAM STUDI D-III FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA**

**2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma longa* L), DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*  
Ruiz & Pav) DAN KOMBINASINYA TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**Karya Tulis Ilmiah**

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
Derajat Ahli Madya Farmasi  
Program Studi D-III Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh:**

**VEGA LACERTA VENUSIA AURIGA ERIDA  
17141057B**

**FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI D-III FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH**

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma longa* L), DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*  
Ruiz & Pav) DAN KOMBINASINYA TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

oleh:

**Vega Lacerta Venusia Auriga Erida  
17141057B**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Karya Tulis Ilmiah  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada Tanggal : 19 Juni 2017

Mengetahui

Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Dekan,

Pembimbing,

Ismi Rahmawati, M.Si., Apt.



Prof. Dr. RA.Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Penguji

1. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt.

1.....

2. Dra. Suhartinah, M.Sc., Apt.

2.....

3. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt.

3.....

## PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2017



Vega Lacerta Venusia Auriga Erida

## KATA PENGANTAR

Segala puja dan puji syukur senantiasa penulis panjatkan kepada Allah SWT pengayom segenap alam yang telah memberikan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ilmiah dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG KUNYIT (*Curcuma longa* L), DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) DAN KOMBINASINYA TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**”. Karya tulis ilmiah ini ditujukan untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Ahli Madya Farmasi (Amd. Farm) dalam ilmu kefarmasian di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penulisan KTI ini tentu tidak lepas dari bantuan, motivasi dan bimbingan berbagai pihak maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Djoni Tarigan, MBA. Selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta
2. Prof. Dr. RA. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt. selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan dan masukan dalam pembuatan karya ilmiah ini.
4. selaku tim penguji KTI, terimakasih telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan kepada peneliti untuk penyempurnaan KTI ini.

5. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Seluruh Staf Perpustakaan, Staf Laboratorium, Karyawan dan Karyawati Universitas Setia Budi, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.
6. Teman-teman seperjuangan DIII Farmasi angkatan 2014 yang juga selalu memberikan motivasi baik berupa sharing pendapat, motivasi dan hal-hal lainnya dalam rangka pembuatan karya ilmiah ini.
7. Semua pihak yang tidak sempat kami sebutkan satu per satu yang turut membantu kelancaran dalam penyusunan makalah ini.

Penulis sangat menyadari tidak ada manusia yang sempurna begitu juga dalam penulisan karya tulis ilmiah ini, apabila nantinya terdapat kekurangan, kesalahan dalam karya tulis ilmiah ini, penulis sangat berharap kepada seluruh pihak agar dapat memberikan kritik dan juga saran seperlunya. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat, khususnya bagi pembaca dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Surakarta, Juni 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
 BAB I. PENDAHULUAN .....	 1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	 6
A. Rimpang Kunyit .....	6
1. Sistematika Tanaman .....	6
2. Nama Daerah .....	6
3. Morfologi .....	7
4. Kandungan Kimia .....	7
5. Khasiat .....	8
B. Daun Sirih Merah .....	9
1. Sistematika Tanaman .....	9
2. Morfologi .....	10
3. Kandungan Kimia Daun Sirih Merah .....	10
3.1. Flavonoid .....	10
3.2. Tanin.....	11
3.3. Minyak Atsiri.....	11

3.4. Alkaloid .....	11
4. Khasiat .....	11
C. Kombinasi Obat Herbal .....	12
D. Simplisia .....	13
1. Pengertian Simplisia .....	13
2. Pengeringan Simplisia .....	13
E. Metode Penyarian .....	14
1. Maserasi.....	14
2. Ekstrak .....	16
3. Larutan Penyari .....	16
F. Bakteri .....	17
1. <i>Stapylococcus aureus</i> .....	17
2. Morfologi.....	17
3. Toksin dan Enzim.....	19
3.1. Eksotosin.....	19
3.2. Koagulase.....	19
3.3. Katalase.....	20
3.4. Leukosidin.....	20
3.5. Enterotoksin .....	20
4. Patologi.....	21
G. Media.....	22
1. Bentuk Media .....	23
1.1. Media Padat.....	23
1.2. Media Cair.....	23
1.3. Media Semi Padat .....	23
2. Susunan .....	24
2.1 Media Alami .....	24
2.2 Media Sintesis atau Media Sintetik .....	24
2.3 Media Semi Sintetis .....	24
3. Sifat .....	25
3.1 Media Umum .....	25
3.2 Media Pengaya.....	25
3.3 Media Selektif .....	25
3.4 Media Diferensial .....	25
3.5 Media Penguji .....	26
3.6 Media Perhitungan .....	26
H. Sterilisasi .....	26
I. Antibakteri .....	27
1. Pengertian Antibakteri .....	27
2. Mekanisme Kerja Zat Antibakteri .....	27
2.1 Merusak Dinding Sel .....	27

2.2 Mengubah Permeabilitas Membran Sel .....	28
2.3 Kerusakan Sitoplasma .....	28
2.4 Menghambat Kerja Enzim .....	29
2.5 Menghambat Sintesis Asam Nukleat .....	29
J. Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri .....	29
1. Konsentrasi Zat Antimikroba .....	30
2. Jumlah Mikroorganisme .....	30
3. Suhu .....	30
4. Spesies Mikroorganisme .....	30
5. pH .....	30
K. Uji Aktivitas Antibakteri .....	31
1. Metode Difusi .....	31
2. Metode Dilusi .....	32
L. Amoxicillin .....	33
M. Landasan Teori.....	34
N. Hipotesis .....	36
 BAB III METODE PENELITIAN.....	 37
A. Populasi dan Sampel.....	37
1. Populasi .....	37
2. Sampel .....	37
B. Variabel Penelitian.....	37
1. Identifikasi Variabel Utama .....	37
2. Klasifikasi Variabel Utama .....	38
3. Definisi Operasional Variabel Utama .....	38
C. Bahan dan Alat.....	39
1. Bahan.....	39
1.1. Bahan Sampel .....	39
1.2. Bakteri Uji .....	39
1.3. Medium .....	39
1.4. Bahan Kimia .....	39
2. Alat .....	40
D. Jalannya Penelitian .....	40
1. Determinasi Tanaman.....	40
2. Pengambilan Sampel .....	40
3. Pembuatan Serbuk .....	41
4. Penetapan Kadar Air Serbuk .....	41
5. Pembuatan Ekstrak Uji .....	42
6. Uji Bebas Alkohol Ekstrak.....	43
7. Identifikasi Kandungan Kimia .....	43
7.1. Pemeriksaan Alkaloid .....	44
7.2. Pemeriksaan Tanin.....	44
7.3. Pemeriksaan Flavonoid .....	44
7.4. Pemeriksaan Saponin .....	44
8. Sterilisasi Alat .....	45
9. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji .....	45

10. Identifikasi Bakteri Uji .....	45
11. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak .....	46
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>52</b>
1. Hasil Determinasi .....	52
1.1. Rimpang Kunyit .....	52
1.2. Daun Sirih Merah .....	52
2. Pengambilan Sampel .....	53
3. Pembuatan Serbuk .....	53
4. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk .....	54
5. Pembuatan Ekstrak .....	54
5.1. rimpang Kunyit .....	55
5.2. Serbuk Daun Sirih Merah .....	55
6. Hasil Pengujian Bebas Alkohol .....	55
7. Pengujian Kadar Lembab Ekstrak .....	56
7. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia .....	56
8. Hasil Pembuatan Suspensi Bakteri Uji .....	57
9. Hasil Identifikasi Bakteri Uji .....	57
10. Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak .....	58
11. Hasil Pengujian Antibakteri Amoksisillin .....	61
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>63</b>
A. Kesimpulan .....	63
B. Saran .....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	

## **DAFTAR GAMBAR**

### **Halaman**

1. Skema pembuatan ekstrak etanol rimpang kunyit dan sirih merah.....	43
2. Skema pembuatan kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan sirih merah .....	48
3. Bagan kerja pembuatan suspensi bakteri.....	49
4. Bagan penguji antibakteri.....	50

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
1. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit .....	53
2. Hasil penetapan kadar air serbuk sirih merah .....	53
3. Rendemen hasil pembuatan ekstrak kunyit .....	54
4. Rendemen hasil pembuatan ekstrak sirih merah .....	54
5. Hasil pengujian bebas etanol .....	54
6. Hasil identifikasi kandungan kimia .....	55
7. Hasil uji katalase dan koagulase bakteri.....	57
8. Hasil KBM ekstrak .....	58
9. Hasil pengujian amoksisilin .....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Surat keterangan determinasi .....	64
2. Gambar rimpang kunyit dan daun sirih merah .....	66
3. Gambar serbuk rimpang kunyit dan daun sirih merah .....	66
4. Gambar alat yang digunakan .....	67
5. Gambar ekstrak rimpang kunyit dan ekstrak daun sirih merah .....	68
6. Uji bebas etanol .....	68
7. Gambar identifikasi senyawa .....	69
8. Perhitungan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit .....	69
9. Perhitungan susut pengeringan serbuk daun sirih merah .....	70
10. Perhitungan rendemen ekstrak etnaol rimpang kunyit .....	70
11. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun sirih merah .....	70
12. Gambar identifikasi bakteri .....	71
13. Gambar tabung dilusi ekstrak rimpang kunyit .....	72
14. Gambar tabung dilusi ekstrak sirih mereah .....	72
15. Gambar tabung dilusi kombinasi .....	73
16. Gambuar uji anti bakteri ekstrak kombinsi .....	73
17. Gambar uji antibakteri rimpang kunyit .....	74
18. Gambar uji antibakteri ekstrak sirih merah .....	75
19. Uji katalase dan koagulase .....	77
20. Perhitungan larutan stok dilusi .....	77
21. Perhitungan pengujian dosis antibiotic amoksisillin .....	79

## INTISARI

**ERIDA, AVL.V., 2017, “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK 70% RIMPANG KUNYIT (*Curcuma longa* ), DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 “, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.**

Rimpang kunyit (*Curcuma longa* ) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan tanaman tradisional Indonesia yang memiliki kemampuan antibakteri. Obat dengan kombinasi baik kimia maupun herbal mulai bersaing dalam hal efek samping dan harga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri rimpang kunyit dan daun sirih merah beserta kombinasinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Rimpang kunyit dan daun sirih merah diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Metode uji aktivitas antibiotik menggunakan metode dilusi dengan konsentrasi bertingkat yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,097%. Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimal dari pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 di media selektif.

Hasil penelitian diperoleh ekstrak rimpang kunyit 50% dan daun sirih merah sebesar 50% kombinasi keduanya memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 12,5% dengan perbandingan 1:1

---

*Kata kunci* : Daun sirih merah, rimpang kunyit, kombinasi, dilusi.

## ABSTRACT

**ERIDA, AVL.V., 2017, “ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF EXTRACT ETHANOLIC RED BETEL LEAVES (*Piper crocatum*), Turmeric rhizome (*Curcuma longa* ) AND BOTH COMBINATION AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923” FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY. SURAKARTA.**

Turmeric rhizome (*Curcuma longa* ) and Red betel leaves (*Piper crocatum*) is Indonesian traditional plant that have antibacterial activity. Drug with combination eventhough its chemistry or herbs start competating in terms of side effects and price. The aim of this research to know the activity of antibacterial turmeric rhizome and red betel leaves with their combination against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Turmeric rhizome and red betel leaves extracted with ethanol 70%. Antibacterial activity uses method dilution with storeyed concentration that are 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,097%. Determination minimum killing concentration of bacterial growth *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in selective media.

Result of this research obtained extract ethanol turmeric rhizome at 50 % ,red betel leaves at 50% and it's combination at 12,5% with comparsion 1:1.

---

**Keywords:**:.Turmeric rhizome, red betel leaves, combination, dilution.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Sejak zaman dahulu bangsa Indonesia telah memiliki keanekaragaman hayati yang sangat beragam, tidak hanya digunakan sebagai bahan pangan, sandang, papan, ataupun untuk dinikmati keindahanannya saja, tetapi juga sangat bermanfaat sebagai bahan untuk kesehatan. Nenek moyang kita menurunkan pengalaman, pengolahan dan pengetahuannya untuk memanfaatkan tumbuhan obat untuk mencegah dan mengobati penyakit.

Bahan alam yang dibuat dengan pengetahuan dan peralatan mampu mengatasi masalah-masalah di bidang kesehatan. Berbagai macam penyakit baik ringan maupun berat dapat dicegah atau disembuhkan dengan bahan alam yang mana untuk mendapatkannya sangat mudah. Keunggulan dari pengobatan menggunakan bahan alam, efek samping yang ditimbulkan lebih kecil dibandingkan obat-obatan kimia. Senyawa-senyawa yang berguna untuk kesehatan dibuat menggunakan teknik-teknik tertentu, sehingga memperoleh ramuan obat tradisional.

Indonesia terkenal dengan berbagai macam tanaman obat, hampir keseluruhan bagian tanaman dapat digunakan sebagai media pengobatan, salah satunya yaitu rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dimana Rimpang kunyit mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu kurkumin yang berperan besar dalam mengatasi berbagai penyakit contohnya sebagai kolagoga, anti diare,

diuretik, anti bakteri, selain itu kurkumin memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga mampu menangkal radikal bebas. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan kurkumin dengan cara ekstraksi menggunakan etanol dan menghasilkan bubuk atau ekstrak seperti ekstrak kurkumin dengan cara maserasi dengan etanol (Setiawati, 2013). Menurut Lupita 2016, ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa*) dapat menghambat dan memubunuh bakteri *Prophyromonas gingivalis* pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 1,60% dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) 3,12%.

Tanaman obat yang dikenal dari zaman dahulu sampai sekarang yang dapat membunuh mikroba bukan hanya Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) tetapi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) mampu sebagai antibakteri, karena kandungan yang terdapat di dalamnya berupa kavikol, senyawa yang dapat membunuh bakteri 5 kali lebih besar dibandingkan phenol biasa (Yendriwati dan Henny, 2008). Banyak sekali hasil dari olahan Daun Sirih Merah yang digunakan untuk kesehatan, baik itu untuk pencegahan maupun penyembuhan. Dari segi penanaman, pemetikan, pengolahan dan cara mengonsumsinya bisa dibilang cukup mudah dan murah dibanding dengan bahan obat yang terbuat dari kandungan kimia.

Hal ini tentu saja memikat para pekerja kesehatan berlomba-lomba dalam membuat suatu produk baik dari bahan alam maupun kombinasinya. Sehingga tak heran banyak produk yang menggunakan bahan alam dari jamu ataupun obat fitofarmaka itu sendiri. Obat bahan alam ini mampu secara empiris digunakan sebagai antimikroba yang mana memiliki potensi untuk menghambat atau

membunuh bakteri, jamur dan mikroba lainnya. Penggunaan obat bahan alam tersebut tidak hanya sebagai obat yang secara oral di konsumsi oleh manusia, namun juga dapat dijadikan sebagai antiseptik, pestisida. Metode uji antibakteri yang digunakan yaitu dilusi Metode ini dipilih karena prinsip dari metode ini adalah pengenceran larutan uji sampai diperoleh seri kadar dan pada masing-masing larutan uji ditambah suspensi bakteri (Sylvia, 2008). Hal tersebut memungkinkan terjadinya interaksi yang homogeny antara larutan uji dengan suspensi bakteri sehingga penghambatan terhadap bakteri bisa lebih sensitif.

Bakteri yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus*, alasan pemilihan bakteri ini karena bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang umumnya terdapat di berbagai bagian tubuh manusia, termasuk hidung, tenggorokan, kulit dan karenanya mudah memasuki makanan. Organisme ini dapat berasal dari orang yang mengolah makanan yang merupakan penular atau yang menderita infeksi patogenik (membentuk nanah) (Irianto, 2006).

Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *Staphylococcus aureus* sepanjang hidupnya, bervariasi dalam beratnya mulai dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan sampai infeksi berat yang mengancam jiwa. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, yang terdapat pada kulit, hidung, mulut, selaput lendir, bisul dan luka (Jawetz *et al*, 1996)

Daun sirih merah mengandung senyawa-senyawa antibakteri seperti tannin, flavonoid, polifenol dan saponin (Haryadi, 2010). Pada penelitian lain, diketahui ekstrak sirih merah memiliki kandungan kimia berupa alkaloid, senyawa polifenol, tannin dan minyak atsiri (Sudewo, 2007). Alkaloid memiliki

kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1991). Tannin memiliki aktivitas antibakteri, karena efek toksisitas tannin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringen tannin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tannin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tannin itu sendiri (Akiyama, 2001). Oleh karena itu, peneliti melakukan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang dengan kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah.

## **B. Perumusan Masalah**

Pada latar belakang, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) yang dikombinasi dengan ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Berapa nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dan ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dan kombinasi keduanya menggunakan metode dilusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

3. Apakah kombinasi ekstrak etanolik rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki daya aktivitas antibakteri lebih baik dari ekstrak tunggal kedua tanaman tersebut ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa* L ) dengan ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa* L), ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dan kombinasi keduanya menggunakan metode dilusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Mengetahui Kombinasi ekstrak etanolik rimpang kunyit (*Curcuma longa* ) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki daya aktivitas antibakteri lebih baik dari pada ekstrak tunggal kedua tanaman tersebut.

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini ditujukan agar perkembangan obat fitofarmaka, jamu dan obat herbal terstandart semakin luas dengan berbagai macam kombinasi senyawa-senyawa metabolit sekunder. Selain itu, memberi arahan untuk peneliti-peneliti dalam pemanfaatan rimpang kunyit dengan daun sirih merah sebagai antibakteri

dan memberi pengetahuan bagi peneliti terhadap kombinasi dari bahan alam yang mampu berperan sebagai antibakteri.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Rimpang Kunyit ( *Curcuma longa* )**

##### **1. Sistematika Tanaman**

Kunir atau kunyit (*Curcuma longa* ) termasuk salah satu tanaman rempah dan obat asli dari wilayah Asia Tenggara. Penyebaran tanaman ini sampai ke Malaysia, Indonesia, Asia Selatan, Cina Selatan, Taiwan, Filipina, Australia bahkan Afrika. Tanaman ini tumbuh dengan baik di Indonesia (Agoes,2010).

Klasifikasi tanaman sebagai berikut (Hapsoh dan Hasanah,2011):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Species	: <i>Curcuma longa</i> Linn.

##### **2. Nama Daerah**

Hampir setiap orang Indonesia dan India serta bangsa Asia umumnya pernah mengonsumsi tanaman rempah ini, baik sebagai pelengkap bumbu masakan, jamu, atau obat untuk menjaga kesehatan dan kecantikan. Kunyit sering

digunakan dalam masakan sejenis gulai dan juga digunakan sebagai pewarna alamiah masakan/makanan agar berwarna kuning (Agoes, 2010).

### **3. Morfologi**

Kunyit merupakan tanaman herba dan tingginya dapat mencapai 100 cm. Batang kunyit semu, tegak, bulat, membentuk rimpang dan berwarna hijau kekuningan. Kunyit berdaun tunggal, berbentuk lanset memanjang, helai daun berjumlah 3-8, ujung dan pangkal daun runcing, tepi daun rata, pertulangan menyirip dan berwarna hijau pucat. Keseluruhan rimpang membentuk rumpun rapat, berwarna orange, dan tunas mudanya berwarna putih. Akar serabut berwarna coklat muda. Bagian tanaman yang digunakan adalah rimpang, daun atau akarnya (Mahendra, 2005).

Tanaman kunyit siap dipanen pada umur 8 – 18 bulan, saat panen yang terbaik adalah umur tanaman 11 – 12 bulan, yaitu pada saat gugurnya daun kedua. Saat itu produksi yang diperoleh lebih besar dan lebih banyak bila dibandingkan dengan masa panen pada umur kunyit 7 – 8 bulan. Ciri – ciri tanaman kunyit yang siap panen ditandai dengan berakhirnya pertumbuhan vegetative, seperti terjadi kelayuan/perubahan warna daun dan batang yang semula hijau berubah menjadi kuning ( Hapsoh dan Hasanah, 2011).

### **4. Kandungan kimia**

Kandungan zat-zat kimia yang terdapat dalam rimpang kunyit adalah sebagai berikut: minyak atsiri (d-alpha-phelandren,d-sabinen, sineol, borneol, zingiberen, turmeron, sesquiterpen alkohol, alfa-atlanton, gama-atlanton)

furmerol, karvon, kurkumin, zat pahit, resin, selulosa, kurkuminoid, asam kafeat (Agoes,2010)

Tanaman bergenus *Curcuma* ini kaya akan berbagai macam senyawa esensial oil. Penelitian yang dilakukan oleh ( Jarikasem dkk, 2005) menemukan sebanyak 25 konstituen essensial oil. Senyawa fitokimia berupa kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin, zingiberen, kurkumenol, kurkumol, eugenol, tetrahidrokurkumin, trietilkurkumin, turmerin, turmeron dan turmeronols ini berperan dalam aktifitas terapeutik.

Kurkumin merupakan senyawa fenolik yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan mendonorkan atom H dari gugus fenoliknya. Aktivitasnya Antidermatophytic kunyit kuning (*Curcuma longa* ) dengan bahan aktif Ar-Turmerone, Turmeric Oil. Penelitian yang dilakukan (Suthisut dan Fields, 2011) menggunakan daun kunyit kuning (*Curcuma longa* ) melalui proses hidrodestilasi diperoleh essensial oil yang kaya akan  $\alpha$ -phellandrene efektif menghambat pertumbuhan dan membunuh larva *Spilosoma obliqu*.

## 5. Khasiat

Kunyit digunakan sebagai obat antigatal, antikejang, Alzheimer, antikanker, menyembuhkan hidung yang tersumbat dengan cara membakar dan menghirupnya, sebagai antikoagulan, menurunkan tekanan darah, obat cacing, obat asma, penambah darah, obat sakit perut, diare, usus buntu, rematik, bahaya campuran kosmetik, bakterisida, fungisida, dan stimulant otak.(Agoes, 2010).

## **B. Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*)**

### **1. Sistematika Tanaman**

Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) termasuk dalam family piperaceae tumbuh merambat dengan bentuk daun menyerupai hati dan bertangkai, yang tumbuh berselang seling dari batangnya serta penampakan daun yang berwarna merah keperakkan serta mengkilap. Dalam daun sirih merah terkandung senyawa fitokimia yakni alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. sirih ini tidak sulit dibudidayakan. Bahkan dalam pot pun dapat tumbuh subur. Ia tidak menyukai panas maupun air yang berlebihan. Media tanamnya sederhana yakni campuran kompos dan tanah dengan perbandingan 1:1. Tanaman disiram satu kali sehari, sedangkan untuk menghindari panas yang terlalu terik atau guyuran air hujan berlebihan, pot bisa dipindah ke tempat yang teduh (Agoes, 2010).

Sejak dulu sirih merah telah digunakan masyarakat sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Secara empiris sirih merah dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti diabetes mellitus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolesterol mencegah maag, kelelahan, nyeri sendi, kanker tertentu, dan memperhalus kulit ( Agoes, 2010).

Adapun kedudukan tanaman sirih merah menurut Sudewo (2010) dalam sistemik taksonomi tumbuhan di klasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida

Sub-kelas : Magnolilidae

Ordo : Piperales

Famili : Piperaceae

Genus : Piper

Spesies : *Piper crocatum*

Kerabat dekat : Kiseureuh, Sirih, Sirih hutan, Kemekes, Kemukus, Mricot lolot, Lada, Cabe jawa, Cabean, Daun wati.

## 2. Morfologi

Tanaman sirih merah ( *Piper crocatum* ) yang termasuk dalam famili *Piperaceae* tumbuh merambat Batangnya bulat berwarna hijau dengan tangkai yang berselang seling. Daunnya berwarna merah perak bagian ujung meruncing. Panjang daunnya bisa mencapai 15-20 cm.. Daun tunggal berlendir seperti jantung hati, pertulangannya menyirip, berasa pahit dan beraroma wangi khas sirih. Batangnya beruas dengan jarak buku 5-10 cm di setiap buku bakal akar (Sudewo, 2005). Sirih merah merupakan tanaman yang tumbuh merambat pada sesuatu yang didekatnya. Tinggi tanaman mencapai 10m, tergantung pertumbuhan dan tempat merambatnya.

## 3. Kandungan Kimia Daun Sirih Merah

Sirih merah memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tannin dan minyak atsiri. Senyawa – senyawa tersebut memiliki daya antibakteri.

### a. Flavonoid

Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mempunyai integritas membrane sel

bakteri. Flavonoid merupakan senyawa fenol sementara senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein ( Robinson, 1991).

#### **c. Tanin**

Tanin mempunyai daya aktivitas antibakteri dengan cara mempresipitasi protein karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Masduki, 1996).

#### **d. Minyak atsiri**

Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap yang akhir-akhir ini menarik perhatian dunia, hal ini disebabkan minyak atsiri dari beberapa tanaman bersifat aktif biologis sebagai antibakteri dan antijamur. Beberapa hasil penelitian menemukan bahwa minyak atsiri dari daun sirih, rimpang temu kunci, dankunyit memiliki aktivitas sebagai antijamur dan antibakteri (Elistina, 2005).

#### **e. Alkaloid**

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1991).

### **4. Khasiat**

Secara empiris sirih merah dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti diabetes mellitus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolesterol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi, radang liver, radang prostat, radang mata, keputihan, maag, kelelahan, nyeri sendi, kanker tertentu dan memperhalus kulit. Sirih merah

banyak digunakan pada klinik herbal sebagai ramuan atau terapi bagi penderita yang tidak dapat disembuhkan dengan obat kimia. Potensi sirih merah sebagai tanaman obat multifungsi sangat besar sehingga perlu ditingatkan dalam penggunaan sebagai bahan obat modern (Agoes, 2010).

### **C. Kombinasi Obat Herbal**

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

Terdapat tiga efek dari kombinasi kandungan kimia obat herbal yaitu efek komplementer, efek sinergis dan efek kontraindikasi. Efek komplementer merupakan suatu efek yang saling mendukung antara zat satu dengan zat yang lainnya. Kedua efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan. Ketiga efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat bertentangan (Pramono, 2006).

## **D. Simplisia**

### **1. Pengertian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat dibedakan menjadi tiga yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum, tidak berupa zat kimia murni (Depkes, 1979).

Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya. Simplisia hewani harus bebas dari fragmen hewan asing atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya. Simplisia pelikan harus bebas dari pengotoran oleh tanah, batu, hewan, fragmen hewan dan bahan asing lainnya (Depkes, 1989).

### **2. Pengeringan Simplisia**

Pengeringan merupakan salah satu proses yang dapat menentukan baik buruknya mutu produk yang dihasilkan. Proses pengeringan harus memperhatikan sifat-sifat zat aktif, cara pemanasan, tinggi suhu dan lamanya pemanasan.

Pengeringan yang baik adalah yang dapat menghasilkan produk dengan zat aktif yang maksimal, yang dapat mencegah kerusakan, menghasilkan butiran-butiran produk yang mudah dihaluskan, mudah larut, curah bebas, dan warna serbuk yang dihasilkan tidak terlalu gelap (Depkes, 1986). Proses pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Selain itu pengeringan juga bertujuan untuk menghilangkan aktivitas enzim yang dapat menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif serta memudahkan dalam pengelolaan proses selanjutnya (Gunawan dan Sri Mulyani, 2004).

Pemilihan cara pengeringan tergantung dari jenis bahan yang dikeringkan (cairan kental, serupa pasta, butiran, serpihan kasar), dan jumlah sifat kimia-fisikanya. Pengeringan dapat dilakukan dengan pengeringan di bawah sinar matahari dan di tempat teduh. Keuntungan dari pengeringan dengan sinar matahari yaitu mudah untuk dikerjakan dan ekonomis, sedangkan kelemahan pada pengeringan ini suhu dan kelembaban tidak terkontrol, sehingga kontaminasi dengan mikroba lebih besar. Pengeringan di tempat teduh digunakan untuk simplisia yang mengandung minyak atsiri atau senyawa lain yang bersifat termostabil (Voight, 1994).

## **E. Metode Penyarian**

### **1. Maserasi**

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk

simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan di dalam sel (Depkes RI, 1986).

Maserasi digunakan sebagai penyarian simplisia yang mengandung zat aktif mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, sitrak dan lain-lain. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Apabila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian (Depkes RI, 1986)

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan kedalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang ulang diaduk. Setelah 5 hari sari diserakai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan diserakai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan ditempat

sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari. Kemudian endapan dipisahkan (Depkes RI, 1986).

Hasil penyarian dengan cara maserasi perlu dibiarkan selama waktu tertentu. Waktu tersebut diperlukan untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut dalam cairan penyari seperti malam dan lain-lain (Depkes RI, 1986).

## **2. Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hamper semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

## **3. Larutan Penyari**

Pemilihan larutan penyari harus mempertimbangkan banyak factor. Pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi pendahuluan adalah etanol. Ekstraksi senyawa fenol tumbuhan dengan etanol mendidih biasanya mencegah terjadinya oksidasi enzim (Harborne, 1987).

Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel tetapi memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lainnya adalah sifatnya untuk mengendapkan bahan putih telur dan menghambat kerja enzim, umumnya berlaku sebagai cairan pengekstraksi adalah campuran bahan pelarut yang berlainan terutama campuran etanol-air. Etanol 70% sangat sering dihasilkan

suatu hasil bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengekstraksi (Voigt, 1994).

## **F. Bakteri**

### **1. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus* adalah organisme yang umumnya terdapat di berbagai bagian tubuh manusia, termasuk hidung, tenggorokan, kulit dan karenanya mudah memasuki makanan. Organisme ini dapat berasal dari orang yang mengolah makanan yang merupakan penular atau yang menderita infeksi patogenik (membentuk nanah) (Irianto, 2006).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Divisi	: Protozoa
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Dwidjoseputro, 1984)

### **2. Morfologi**

Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk family Micrococcaceae. Bakteri ini berbentuk bulat koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai buah anggur. Menurut Bahasa Yunani, Staphyle berarti anggur dan coccus berarti bulat atau bola. Salah satu spesies menghasilkan pigmen berwarna kuning emas sehingga dinamakan aureus (berarti emas, seperti matahari). Bakteri ini dapat

tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen. Pada tahun 1984 rosenberg mengajukan tatanama berdasarkan pigmen koloni *Staphylococcus*, yaitu *Staphylococcus aureus* untuk koloni berwarna kuning emas dan *Staphylococcus albus* untuk koloni berpigmen putih. *Staphylococcus albus* sekarang dikenal dengan *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus aureus* kebanyakan berkoloni disaluran hidung dan dibagian tubuh lain. *Staphylococcus* bersifat anaerob fakultatif dan menghasilkan enzim katalase. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dalam larutan NaCl 15%. *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim koagluase. *Staphylococcus aureus* bersifat patogen pada manusia ditemukan di hidung 6,6% bayi berusia satu hari, 50% bayi berusia 2 hari, dan 62% bayi berusia 3 hari, dan 88% berusia 4 sampai 8 hari. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat. Memiliki diameter 0,4 sampai 1 mikron, dengan diameter 0,4-1,2 mikrometer. Tidak bergerak dan tidak berspora. Berbagai spesies *Staphylococcus* tumbuh dengan baik dalam kaldu biasa pada suhu 37 °C. kisaran suhu pertumbuhan adalah 15-40°C dan suhu optimum adalah 35°C. Dalam lempeng agar biasa dengan suasana aerob dan suhu 37°C bakteri ini tidak menghasilkan pigmen. Dalam lempeng agar darah pada suhu 30°C pembentukan pigmen kurang baik, akan tetapi apabila koloni tersebut dipindahkan ke agar biasa atau perbenihan loeffler dan diinkubasi pada suhu kamar pembentukan pigmen akan sangat baik (Radji, 2011).

### 3. Toksin dan Enzim

*Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan tubuh serta adanya beberapa zat yang dapat diproduksi, antara lain :

#### a. Eksotosin

Bahan ini dapat ditemukan dalam filtrate hasil pemisahan dari kuman dengan jalan menyaring kultur. Bahan ini bersifat tidak tahan pemanasan (termolabil) dan bila disuntikkan pada hewan percobaan dapat menimbulkan kematian dan nekrose kulit.

- 1) Alfa Hemolisa : suatu protein dengan berat molekul  $3 \times 10^4$  yang dapat melarutkan eritrosit kelinci, merusak trombosit dan dapat mempengaruhi otot polos pembuluh darah.
- 2) Beta Hemolisa : suatu protein yang dapat menghancurkan eritrosit kambing tetapi tidak pada eritrosit kelinci dalam 1 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$
- 3) Gama Hemolisa : bersifat antigen ( Depkes RI, 1994).

#### b. Koagulase

Koagulase adalah protein ekstraseluler yang dapat berikatan dengan protombrin inang untuk membentuk sebuah kompleks yang disebut stafilotrombin. Aktivitas spesifik protease dari tombrin adalah mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Uji koagulase merupakan salah satu cara yang dilakukan di laboratorium klinik untuk mengidentifikasi keberadaan *Staphylococcus aureus* dan untuk menunjukkan virulensi bakteri ini, yaitu dapat

melindungi dari fagositosis dan menghalangi kerja sistem imunitas inang. (Radji, 2011).

c. Katalase

Enzim ini dibuat oleh *Staphylococcus* dan *Mikrokokus*, sedangkan *Pneumokokus* dan *Streptokokus* tidak. Adanya enzim ini dapat diketahui jika koloni dituangi  $H_2O_2$  3% akan timbul gelembung – gelembung udara, yang berarti menghasilkan katalase yaitu mengubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen. ( Arif et al, 2000).

d. Leukosidin

Leukosidin adalah toksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang secara spesifik ditujukan untuk menghalangi kerja polimorfonuklear leukosit. Fagositosis pertahanan terpenting untuk melawan infeksi *Staphylococcus aureus* oleh sebab itu leukosidin dapat dikatakan salah satu factor virulensi (Radji, 2011).

e. Enterotoksin

Adalah suatu protein dengan berat molekul  $3 \times 10^4$  yang tahan terhadap pendidihan selama 30 menit. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab penting dalam keracunan makanan. Enterotoksin dihasilkan ketika *Staphylococcus aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Arif et al, 2000).

Masa tunas antara 2-6 jam dengan gejala yang timbul secara mendadak yaitu mual, muntah, diare, kadang-kadang terjadi kolaps sehingga mungkin dikira

kolera. Efek muntah enterotoksin mungkin akibat perangsangan SSP (Sistem saraf pusat). Setelah toksin bekerja pada reseptor-reseptor syaraf dalam usus.

Belum ditemukan suatu cara yang mudah dapat menyatakan bahwa suatu pembenihan bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung enterotoksin, yang jelas ada hubungannya antara pembentukan enterotoksin dan koagulase.

*Staphylococcus aureus* yang membentuk enterotoksin adalah koagulase positif, tetapi tidak semua jenis koagulase positif dapat membentuk enterotoksin. Jika dari setiap gram makanan yang tersangka dapat ditemukan ratusan, ribuan bakteri *Staphylococcus aureus* atau lebih, maka hal ini dapat merupakan suatu bukti dari dugaan bahwa makanan tersebut memang menyebabkan keracunan makanan. Namun perlu diingat bahwa enterotoksin bersifat termotabil, sehingga jika makanan yang tersangka telah dipanaskan mungkin tidak dapat ditemukan bakteri lagi, meskipun didalamnya terkandung jumlah besar enterotoksin (Arif *et al*, 2000).

#### **4. Patologi**

*Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang terdapat pada kulit manusia. Merupakan jenis bakteri patogen yang dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit (Radji, 2011). Secara ekologis, *Staphylococcus aureus* erat sekali hubungannya dengan manusia terutama pada bagian kulit, hidung dan tenggorokan. Dengan demikian makanan dan minuman kebanyakan tercemar melalui pengelolaan oleh manusia (Buckle, 2007). Bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik, serta menghasilkan tiga macam metabolit yaitu, metabolit nontoksin, eksotoksin dan enterotoksin

(Radji, 2009). Secara keseluruhan organisme ini tidak kuat bersaing dengan lainnya dan akibatnya bakteri ini tidak mempunyai peran penting pada bahan-bahan pangan yang tidak dimasak. Akan tetapi, dalam bahan pangan yang telah diamsak atau diasin, dimana organisme yang ada telah rusak oleh pemanasan atau pertumbuhannya terhambat oleh konsentrasi garam, sel-sel *Staphylococcus aureus* dapat terus berkembang mencapai tingkat yang membahayakan (Buckle, 2007).

Keracunan karena bahan pangan yang tercemar *Staphylococcus aureus* kebanyakan berhubungan dengan produk bahan pangan yang telah dimasak terutama yang dikelola oleh manusia. Gejala-gejala dari bahan pangan yang tercemar *Staphylococcus aureus* bersifat intoksikasi. Pertumbuhan organisme ini dalam bahan pangan menghasilkan racun enterotoksin (Buckle, 2007).

Pada perjangkitan peracunan makanan oleh *Staphylococcus aureus* biasanya dapat ditunjukkan bahwa galur *Staphylococcus aureus* di dalam makanan yang tercemar itu sama dengan yang ada pada tangan orang yang menangani makanan tersebut. Cara pencegahan terbaik adalah menyimpan semua bahan makanan yang mudah busuk di dalam lemari es (di bawah 6°C sampai 7°C). Makanan yang sudah dipanasi kembali tidak boleh dibiarkan berjam-jam pada suhu kamar sebelum disajikan (Irianto, 2006).

### **G. Media**

Media adalah suatu wadah dimana untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba, agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Media dipergunakan harus dalam keadaan steril yang tidak

ditumbuhi mikroba lain yang tidak diharapkan. Didalam media diperlukan beberapa persyaratan tertentu yaitu Pertama, didalam media harus terkandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba. Kedua, media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Ketiga, media harus dalam keadaan steril, artinya sebelum ditanami mikroba yang di uji, tidak di tumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan (Suriawiria, 1986).

## **1. Bentuk Media**

Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematik seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya. Bentuk media dikenal tiga jenis yaitu:

**1.1. Media padat.** Media ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar-agar per 1000 ml media. Jumlah tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung kepada jenis atau kelompok mikroba yang ditanamkan. Ada yang memerlukan kadar air tinggi, sehingga jumlah tepung agar-agar harus rendah, tetapi adapula yang memerlukan kandungan air rendah sehingga penambahan tepung agar-agar harus sedikit. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikroalge.

**1.2. Media cair.** Media tidak ditambahkan zat pematik, biasanya media cair dipergunakan untuk pembiakan mikroalge tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi.

**1.3. Media semi padat atau semi cair.** Penambahan zat pematik hanya 50% atau kurang dari yang seharusnya. Ini umumnya diperlukan untuk

pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerobik atau fakultatif (Suriawiria, 1986).

## **2. Susunan**

Fungsi fisiologis dari masing-masing komponen (unsur/hara) yang terdapat dalam media, maka susunan media pada semua jenis mempunyai kesamaan isi, yaitu kandungan air, kandungan nitrogen, baik berasal dari protein, asam amino dan senyawa lain yang mengandung nitrogen, kandungan sumber energi/unsur C, baik yang berasal dari karbohidrat, lemak, protein ataupun senyawa-senyawa lain, faktor pertumbuhan, umumnya vitamin dan asam amino. Berdasarkan kepada persyaratan tersebut, susunan media dapat berbentuk:

**2.1. Media alami.** Media yang disusun oleh bahan-bahan alami seperti kentang, tepung, daging, telur, ikan, umbi-umbian dan sebagainya. Media alami yang paling banyak dipergunakan adalah dalam bentuk kultur jaringan tanaman ataupun hewan. Contoh media alami yang paling banyak dipergunakan adalah telur untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan virus.

**2.2. Media sintesis atau media sintetik.** Media yang disusun oleh senyawa kimia seperti media untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri *Clostridium*.

**2.3. Media semi sintesis.** Media yang tersusun oleh campuran bahan-bahan alami dan bahan-bahan sintesis, misalnya kaldu nutrisi untuk pertumbuhan bakteri, toge agar untuk pertumbuhan jamur/ragi, wortel agar untuk pertumbuhan ragi dan beberapa jenis jamur (Suriawiria, 1986).

### 3. Sifat

Media bukan hanya untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba, tetapi untuk tujuan-tujuan lain, misalnya untuk isolasi, seleksi, evaluasi, dan diferensiasi biakan yang didapatkan. Berdasarkan kepada sifat-sifatnya, media dibedakan menjadi:

**3.1. Media umum.** Media dipergunakan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum, seperti *Agar Kaldu Nutrisi* untuk bakteri, *Agar Kentang Dekstrosa* untuk jamur, dan sebagainya.

**3.2. Media pengaya.** Media dipergunakan dengan maksud memberikan kesempatan terhadap suatu jenis/kelompok mikroba untuk tumbuh dan berkembang lebih cepat dari jenis/kelompok lainnya yang sama-sama berada di dalam satu bahan. Misalnya, untuk memisahkan bakteri penyebab penyakit tifus (*Salmonella typhi*) dari bahan tinja (kotoran manusia) dengan media pengaya seperti *Kaldu-selenit* atau *Kaldu-tetrathionat*.

**3.3. Media selektif.** Media hanya dapat ditumbuhi oleh satu atau lebih jenis mikroba tertentu tetapi akan menghambat atau mematikan untuk jenis-jenis lainnya. Misalnya media SS (*Salmonella-Shigella*) agar untuk bakteri *Salmonella* dan *Shigella*, atau media WB (*Wismuth dan Blair*) agar untuk kelompok yang sama.

**3.4. Media diferensial.** Media dipergunakan untuk penumbuhan mikroba tertentu serta penentuan sifat-sifatnya. Seperti, media agar darah yang

dipergunakan untuk penumbuhan bakteri hemolitik, sehingga bakteri yang non-hemolitik tidak dapat tumbuh atau akan dihambat.

**3.5. Media penguji.** Media dipergunakan untuk pengujian senyawa atau benda tertentu dengan bantuan mikroba. Misalnya, media penguji vitamin, asam amino, antibiotika, residu pestisida, residu detergen dan sebagainya.

**3.6. Media perhitungan.** Media dipergunakan untuk menghitung jumlah mikroba pada suatu bahan. Media ini dapat berbentuk media umum, media selektif, ataupun media diferensial dan penguji (Suriawiria, 1986).

## H. Sterilisasi

Bahan ataupun peralatan yang dipergunakan di dalam mikrobiologi, harus dalam keadaan steril. Artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan, baik yang akan mengganggu/merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan. Cara sterilisasi Pertama, sterilisasi secara fisik, misalnya dengan pemanasan, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar gamma, sinar ultraviolet, dan sebagainya. Kedua, sterilisasi secara kimia, misalnya dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin, larutan AMC (campuran asam klorida dengan garam Hg) dan sebagainya. Ketiga, sterilisasi secara mekanik, misalnya dengan penggunaan saringan/filter (Suriawiria, 1986).

## **I. Antibakteri**

### **1. Pengertian Antibakteri**

Antibakteri secara umum adalah suatu komponen yang bersifat dapat menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) atau membunuh (bakterisidal), dan digunakan untuk kepentingan pengobatan infeksi pada manusia dan hewan (Ganiswara, *et al*, 1995).

Aktivitas bakteriostatik yakni antibakteri tersebut berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan jika bahan antibakteri dihilangkan maka perkembangbiakan bakteri berjalan seperti semula. Sedangkan aktivitas bakterisidal yakni antibakteri digunakan untuk membunuh bakteri serta jumlah total organisme yang dapat hidup. Daya bakterisidal berbeda dengan bakteriostatik karena prosesnya berjalan searah, yaitu bakteri yang telah mati tidak dapat dibiakkan kembali meskipun bahan bakterisidal dihilangkan (Lay, 1992).

### **2. Mekanisme Kerja Zat Antibakteri**

Zat Antibakteri dalam melakukan efeknya, harus dapat mempengaruhi bagian-bagian vital sel seperti membrane sel, enzim-enzim dan protein structural. (Pelczar, 1988), menyatakan bahwa mekanisme kerja zat antibakteri dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut :

**2.1 Merusak Dinding Sel** Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan luar yang kaku disebut dinding sel (peptidoglikan). Sintesis dinding sel ini melibatkan sejumlah langkah enzimatik yang banyak diantaranya dihalangi oleh antimikroba. Rusaknya dinding sel bakteri misalnya karena pemberian enzim lisosim atau hambatan pembentuknya oleh karena obat antimikroba, dapat

menyebabkan sel bakteri lisis. Kerusakan dinding sel akan berakibat terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kematian sel karena dinding sel berfungsi sebagai pengatur pertukaran zat-zat dari luar dan ke dalam sel, serta memberi bentuk sel.

**2.2 Mengubah Permeabilitas Membran Sel** Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput yang disebut membrane sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membrane ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membrane sel berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar, melakukan pengangkutan zat-zat yang diperlukan aktif dan mengendalikan susunan dalam diri sel. Proses pengangkutan zat-zat yang diperlukan baik kedalam maupun keluar sel dimungkinkan karena di dalam membrane sel terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membrane luar. Dengan rusaknya dinding sel, bakteri secara otomatis akan berpengaruh pada membrane sitoplasma, beberapa bahan antimikroba seperti fenol, kresol, detergen dan beberapa antibiotic dapat menyebabkan kerusakan pada membrane sel, bahan-bahan ini akan menyerang dan merusak membrane sel sehingga fungsi semi permeabilitas membrane mengalami kerusakan. Kerusakan pada membrane sel ini akan mengakibatkan terhambatnya sel atau matinya sel.

**2.3 Kerusakan Sitoplasma** Sitoplasma atau cairan sel terdiri atas 80% air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid, ion anorganik dan berbagai senyawa dengan bobot molekul rendah. Kehidupan suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan

alamiahnya. Konsentrasi tinggi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi dan denaturasi komponen-komponen seluler yang vital.

**2.4 Menghambat Kerja Enzim** Didalam sel terdapat enzim dan protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam-logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lainnya umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi relative rendah. Logam-logam ini akan mengikat gugus enzim sulfhidril yang berakibat terhadap protein yang terbentuk. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

**2.5 Menghambat Sintesis Asam Nukleat dan Protein** DNA, RNA dan protein memegang peranan amat penting dalam sel, beberapa bahan antimikroba dalam bentuk antibiotik misalnya kloramfenikol, tetrasiklin, prumysin menghambat sintesis protein. Sedangkan sintesis asam nukleat dapat dihambat oleh senyawa antibiotik misalnya mitosinmin. Bila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

## **J. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Zat Antibakteri**

Banyak factor dan keadaan yang mempengaruhi kerja zat antibakteri dalam menghambat atau membasmi organisme patogen. Semuanya harus dipertimbangkan agar zat antibakteri tersebut dapat bekerja secara efektif.

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kerja zat antiseptik menurut (Pelczar, 1988), adalah sebagai berikut :

### **1. Konsentrasi atau Intensitas Zat Antimikroba**

Semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba semakin tinggi daya antimikrobanya artinya banyak bakteri akan terbunuh lebih cepat bila konsentrasi zat tersebut lebih tinggi.

### **2. Jumlah Mikroorganisme**

Semakin banyak jumlah organisme yang ada maka makin banyak pula waktu yang diperlukan untuk membunuhnya.

### **3. Suhu**

Kenaikkan suhu dapat meningkatkan keefektifan suatu disinfektan atau bahan microbial. Hal ini disebabkan zat kimia merusak mikroorganisme melalui reaksi kimia. Reaksi kimia bisa dipercepat dengan meninggikan suhu.

### **4. Spesies Mikroorganisme**

Spesies mikroorganisme menunjukkan ketahanan yang berbeda-beda terhadap suatu bahan kimia tertentu.

### **5. Keasaman atau Kebasahan (pH)**

Mikroorganisme yang hidup pada pH asam akan lebih mudah dibasmi pada suhu rendah dan dalam waktu yang singkat bila dibandingkan dengan mikroorganisme yang hidup pada pH basa.

## **K. Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji senyawa antibakteri adalah untuk mengetahui apakah suatu senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relative tidak toksik untuk hospes (Pratiwi, 2008).

### **1. Metode difusi**

Metode difusi adalah menetapkan kerentanan atau aktivitas organisme terhadap antimikroba dengan menginokulasi pelat agar dengan biakan mikroba dan membiarkan zat atau antimikroba berdifusi ke media agar. Pada media agar antimikroba terdifusi sampai pada titik dimana antimikroba tidak lagi menghambat pertumbuhan mikroba. Efektivitas antimikroba ditunjukkan oleh zona hambatan. Zona hambatan tampak sebagai area jernih yang mengelilingi cakram dimana zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi. Ukuran dari zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas dari media biakan, kecepatan difusi antimikroba, konsentrasi antimikroba pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antimikroba, dan interaksi antimikroba dengan media. Metode penggunaan difusi menghambat pertumbuhan mikroba pada daerah berupa lingkaran atau zona di sekeliling silinder yang berisi larutan antimikroba (Harminta, 2004).

Prinsip metode difusi adalah pengukuran potensi antibakteri berdasarkan pengamatan diameter daerah hambatan bakteri karena berdifusinya obat dari titik

awal pemberian ke daerah difusi. Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar, menggunakan cakram kertas saring yang berisi sejumlah tertentu obat yang ditempatkan pada permukaan medianya. Setelah diinkubasi zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Jawetz, 1996).

Penuangan media metode difusi ke dalam cawan petri ada dua cara, yaitu metode pour plate dan spread plate. Pada metode pour plate sebanyak 1 mL atau 0,1 mL larutan biakan aktif dimasukkan dalam cawan petri kosong kemudian ditambahkan media agar dalam keadaan hangat dan dihomogenkan. Dibiarkan memadat dan koloni bakteri akan berada di atas maupun dibawah media padat. Pada metode spread plate, sebanyak 1 mL atau 0,1 mL larutan biakan aktif dimasukkan dalam cawan petri berisi media padat kemudian diratakan dengan L glass, koloni bakteri akan berada di atas permukaan media padat saja (Tortora, 2001). Zona bening diukur menggunakan penggaris dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona hambat) dengan diameter cakram (Volk dan Wheeler, 1993).

Keuntungan metode difusi digunakan untuk mengetahui garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz, 1986).

## **2. Metode Dilusi**

- a. metode dilusi *cair/broth dilution test (serial dilution)*. Metode ini digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan

membuat seri pengenceran pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji pada konsentrasi terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi2008)

b. Metode dilusi padat (*solid dilution test*). Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

### **L. Amoxicillin**

*Amoxicillin* merupakan senyawa *penicillin* semi sintetik dengan aktivitas antibakteri spectrum luas yang bersifat bakterisid. Aktivitasnya mirip dengan ampisilin, efektif terhadap sebagian bakteri Gram-positif dan beberapa Gram-negatif yang patogenik. Bakteri patogenik yang sensitif terhadap *amoxicillin* adalah *Staphylococci*, *Streptococci*, *Enterococci*, *S. pneumoniae*, *N. gonorrhoeae*, *H influenzae*, *E. coli* dan *P. mirabilis*. *Amoxicillin* kurang efektif terhadap spesies *Shigella* dan bakteri penghasil beta-laktamase. Senyawa ini berbeda dengan ampisilin, yaitu dengan adanya suatu gugus hidroksil fenolik tambahan. Spektrum kerjanya seperti ampisilin, tetapi jumlah yang diabsorpsi lebih banyak (Mutschler, 1991).

### M. Landasan Teori

Kelebihan dari pengobatan dengan menggunakan ramuan tumbuhan secara tradisional tersebut ialah tidak adanya efek samping yang ditimbulkan seperti yang sering terjadi pada pengobatan kimiawi (Thomas, 1989). Tanaman daun sirih merah dan kunyit berkhasiat sebagai antibakteri yang tinggi karena mengandung kavikol pada daun sirih merah dan kurkumin pada kunyit.

*Staphylococcus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang tergabung, merupakan eksoskeleton yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dirusak oleh asam kuat atau lisozim. (Jawetz *et al.*, 2005).

Pada penelitian sebelumnya (Anika, 2012) Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80% dan 100%. Penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai kadar hambat minimal (KHM) yaitu 20% dan kadar bunuh minimal (KBM) 25% menggunakan metode dilusi metode dilusi dilakukan untuk mengamati aktivitas antibakteri dan dinyatakan lebih efektif karena bahan coba langsung berkontak dengan mikroorganisme (Yusrini dan Aditya 2014).

Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut (Hastari, 2012). Etanol dapat

dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih selektif (Depkes, 1986).

Maserasi digunakan sebagai penyarian simplisia yang mengandung zat aktif mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak dan lain-lain (Depkes RI, 1986).

Metode uji antibakteri yang digunakan yaitu dilusi Metode ini dipilih karena prinsip dari metode ini adalah pengenceran larutan uji sampai diperoleh seri kadar dan pada masing-masing larutan uji ditambah suspensi bakteri (Sylvia, 2008). Hal tersebut memungkinkan terjadinya interaksi yang homogen antara larutan uji dengan suspensi bakteri sehingga penghambatan terhadap bakteri bisa lebih sensitive. Metode dilusi digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji pada konsentrasi terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008). Menurut Lupita 2016, ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa*) dapat menghambat dan memubunuh bakteri *Prophyromonas gingivalis*

pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 1,60% dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) 3,12%.

Terapi kombinasi dapat digunakan untuk memperluas spectrum antibakteri, mencegah munculnya mutan yang resisten, meminimalisasi toksisitas, dan memperoleh aktivitas antibakteri yang sinergis (Aiyegoro et al, 2009). kombinasi dari agen yang menunjukkan sinergis dapat berpotensi untuk meningkatkan penyembuhan bagi pasien yang mengalami resistensi antibiotik (Aiyegoro et al, 2011).

### **N. Hipotesis**

Berdasarkan permasalahan yang ada, maka dapat diambil jawaban sementara pada penelitian ini yaitu :

1. Kombinasi ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) mempunyai efek aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Metode dilusi dapat menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L), daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dan kombinasi keduanya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Kombinasi ekstrak etanolik rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki daya aktivitas antibakteri lebih baik dari ekstrak tunggal kedua tanaman tersebut

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

##### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L) dan daun dari sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), yang di dapat dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Oktober tahun 2016

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) yang siap panen ditandai dengan layunya daun tanaman kunyit. Daun sirih merah (*Piper coracatum* Ruiz & Pav) yang sudah cukup tua apabila dipegang, daun terasa tebal dan kaku, bagian daun diambil tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, kurang lebih diambil sekitar sekitar 60 cm dari permukaan tanah menuju ke atas.

##### **3. Variabel Penelitian**

###### **1. Identifikasi Variabel Utama**

Variabel utama pertama adalah ekstrak rimpang kunyit dan daun sirih merah yang dibuat dengan maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Variabel utama kedua adalah kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan ekstrak daun sirih merah yang dibuat dengan maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Variabel utama ketiga adalah aktivitas antibakteri kombinasi rimpang kunyit dan daun sirih merah beserta kombinasinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

## **2. Klasifikasi Variabel Utama**

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variable yaitu variable bebas, variable kendali dan variable tergantung.

Variable bebas dalam penelitian ini adalah berbagai konsentrasi dari ekstrak rimpang kunyit, ekstrak daun sirih merah dan kombinasi ekstrak rimpang kunyit dengan daun sirih merah.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah bakteri uji *Staphylococcus aureus*, sterilitas, media, peralatan, suhu, waktu inkubasi, media tumbuh, metode ekstraksi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan aktifitas antibakteri ekstrak daun sirih merah, rimpang kunyit dan kombinasinya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **3. Definisi operasional variable utama**

Pertama, rimpang kunyit adalah rimpang yang berasal dari tanaman kunyit dan daun sirih merah adalah daun yang berasal dari tanaman sirih merah diambil pada bulan Oktober 2016 dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, rimpang kunyit dan daun sirih merah diambil kemudian dibersihkan dari pengotor, ditiriskan, lalu dirajang. Rimpang maupun daun, dikeringkan dengan oven pada suhu 37°C, setelah kering lalu diblender untuk menghaluskan dan diayak dengan pengayak no 60.

Ketiga, ekstrak etanol serbuk rimpang kunyit dan daun sirih merah diekstraksi dengan pelarut etanol 70% menggunakan metode maserasi.

Keempat, kombinasi ekstrak etanol serbuk rimpang kunyit dan daun sirih merah adalah satu bagian ekstrak etanol serbuk rimpang kunyit dan satu bagian daun sirih merah yang dikombinasikan dengan perbandingan 1:1.

Kelima, Uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi adalah mengukur aktivitas antibakteri kombinasi rimpang kunyit dan daun sirih merah terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi bertingkat yaitu 50%;25%;12,5%;6,25%;3,125%;1,56%;0,78%;0,39%;0,19%;0,097%.

Keenam konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil ekstrak uji yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

Ketujuh konsentrasi bunuh minimum (KBM) adalah konsentrasi terkecil ekstrak uji yang dapat membunuh mikroba.

## **B. Bahan dan Alat**

### **1. Bahan**

**1.1 Bahan Sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit (*Curcuma longa*) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*) dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah.

**1.2 Bakteri Uji.** Bakteri Uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**1.3 Medium.** Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah VJA (*Vogel Johnson Agar*), *Brain Heart Infusion*, Plasma.

**1.4 Bahan Kimia.** Bahan kimia yang digunakan etanol 70% aquades steril, Amoxicillin, Larutan  $\text{H}_2\text{O}_2$  3%,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, HCl, Kalium Tellurit.

## **2. Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat – alat untuk ekstraksi maserasi dan uji fitokimia : Timbangan analitik, oven, blender, botol seabam, ayakan no 60, Erlenmeyer 500 mL, tabung reaksi, batang pengaduk, pipet ukur 1 ml, *rotary evaporator* vakum, Erlenmeyer 250 mL, Beaker glass 100 mL, pengaduk kaca, flannel, alumunium foil.

Alat-alat untuk uji antibakteri : autoklaf, inkubator, lampu Bunsen, labu Erlenmeyer 250 mL, tabung reaksi, gelas ukur, pinset, koloni counter, jarum ose, kertas label, kapas.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman. Determinasi tanaman ini dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Determinasi harus diperhatikan pula ciri-ciri morfologi tanaman terhadap kepustakaan.

### **2. Pengambilan sampel**

Rimpang kunyit dan daun sirih merah yang digunakan berasal dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah. Pengambilan bahan perlu diperhatikan kualitasnya untuk mendapatkan bahan obat yang terbaik dari tanaman,

### 3. Pembuatan serbuk

Rimpang kunyit dan daun sirih merah sebelum memasuki tahap pengeringan, harus dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan zat-zat pengotor yang melekat di daun sirih merah dan rimpang kunyit, setelah dicuci daun dan rimpang ditiriskan dan dirajang, setelah itu dikeringkan dengan cara dioven pada suhu  $<60^{\circ}\text{C}$ . Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya perubahan kimiawi yang menurunkan mutu juga untuk menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri. Bahan yang telah dikeringkan akan memudahkan proses penyerbukan (Harbone 1987, Ansel 1989).

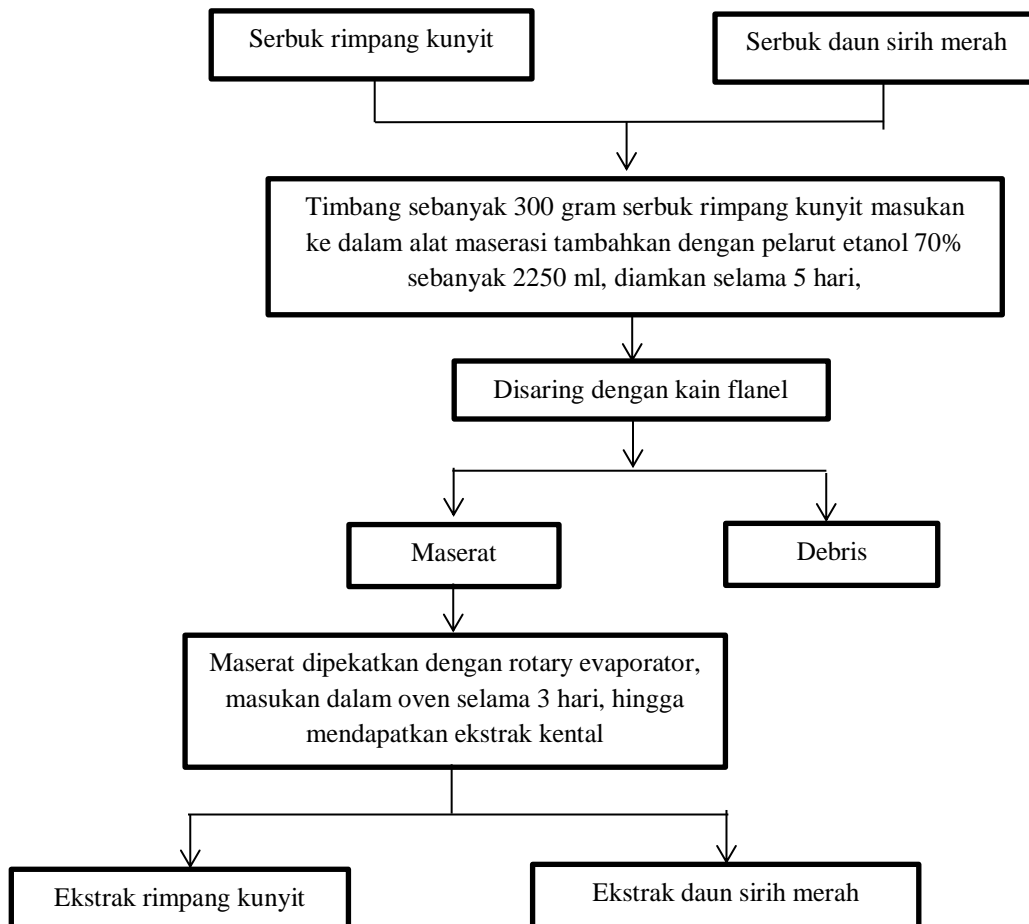
Rimpang kunyit dan daun sirih merah yang sudah kering, dimasukkan ke dalam mesin penyerbuk. Penyerbukan ini bertujuan untuk memperluas permukaan partikel dengan pelarut sehingga ketika melakukan ekstraksi dapat berlangsung efektif. Setelah dilakukan penyerbukan serbuk diayak menggunakan ayakan no 60.

### 4. Penetapan kadar air serbuk daun sirih merah dan rimpang kunyit

Penetapan kadar air serbuk daun sirih merah dan rimpang kunyit dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi dengan cara serbuk daun sirih merah dan rimpang kunyit masing-masing ditimbang sebanyak 2 g kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *moisture balance*. Adanya bunyi menandakan bahwa pengukuran kadar air telah selesai. Kadar air yang diperoleh tidak boleh melebihi 10% (Depkes RI, 1985)

## **5. Pembuatan ekstrak uji**

Maserasi adalah melarutkan bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak yang terbentuk pada saat penghalusan di ekstraksi atau difusi bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat di dalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Voigt, 1994). Maserasi dilakukan dengan perbandingan 1:7,5 dengan cara serbuk rimpang kunyit dan daun sirih merah ditimbang sebanyak 300 gram, dimasukan ke dalam botol sebam ditambah dengan 2,250 ml etanol 70% dan dibiarkan selama 5 hari sambil dilakukan pengocokan. Larutan kemudian disaring untuk memisahkan filtrate dan debris. Filtrat di pekatkan menggunakan evaporator vakum, selanjutnya dikeringkan dalam oven selama 3 hari.



**Gambar 1 : skema pembuatan ekstrak etanol 70% rimpang kunyit (*Curcuma longa*) daun sirih merah (*Piper crocatum*)**

## **6. Uji bebas alkohol ekstrak etanolik daun sirih merah dan rimpang kunyit**

Uji esterifikasi dengan cara ekstrak ditambah dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , uji positif adanya bebas alkohol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari alkohol.

## **7. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun sirih merah dan rimpang kunyit**

Identifikasi kandungan kimia dilakukan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam daun sirih merah dan rimpang kunyit. Identifikasi kandungan senyawa yaitu alkaloid, flavonoid, tanin yang terdapat

dalam daun sirih merah dan rimpang kunyit dan dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Universitas Setia Budi.

**Identifikasi kandungan kimia tersebut meliputi :**

**7.1 Pemeriksaan Alkaloid.** Masukkan ekstrak etanol daun sirih merah atau rimpang kunyit ditambah sedikit larutan HCl 2N, panaskan kemudian ditambahkan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dengan dragendorff terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka kemungkinan ada alkaloid (Depkes 1977).

**7.2 Pemeriksaan Tanin.** Ekstrak daun sirih merah dan rimpang kunyit ditambah 10 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan disaring pada ekstrak. Filtrate yang diperoleh ditambah pereaksi besi (III) klorida 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.

**7.3 Pemeriksaan Flavonoid.** Masukkan ekstrak etanol daun sirih merah atau rimpang kunyit ditambah 5 ml aquades, dipanaskan selama 1 menit, disaring dan diambil filtratnya, filtrat ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol banding asam klorida (1:1). Campuran ini dikocok kuat kuat, kemudian dibiarkan memisah. reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning jingga pada amil alkohol (Depkes 1980).

**7.4 Pemeriksaan Saponin.** Masukkan ekstrak etanol daun sirih merah atau rimpang kunyit ke dalam tabung reaksi tambahkan 10 ml air panas, dinginkan kemudian kocok kuat kuat selama 10 detik ( jika zat yang diperiksa berupa sediaan cair, encerkan 1 ml sediaan yang diperiksa dengan 10 ml air dan kocok kuat kuat 10 detik ). Positif bila terbentuk buih yang mantap selama tidak

kurang dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Depkes 1980)

### **8. Sterilisasi alat**

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara membungkus semua peralatan dengan menggunakan kertas coklat kemudian dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 Psi (Per Square Inchi) selama 15 menit. Alat yang tidak tahan panas tinggi disterilisasi dengan alkohol 70%.

### **9. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibuat dengan cara biakan bakteri murni diambil sebanyak 0,1 ml dari suspensi bakteri yang kekeruhannya disamakan dengan kekeruhan 0,5 Mc Farland yang dianggap setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 100 mL media *Brain Heart Infusion* (BHI) lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### **10. Identifikasi bakteri uji**

Identifikasi *Staphylococcus aureus* dilakukan secara mikroskopik dengan pengecetan Gram. Biakkan bakteri diletakan di atas obyek glass dan dilakukan pengecetan dengan meneteskan Gram A, Gram B, Gram C, Gram D setiap melakukan pengecetan dicuci dengan air mengalir, obyek glass dikeringkan ditetesi minyak mersii diamati dengan mikroskop. Bakteri Gram positif ditunjukan dengan adanya warna ungu, sedangkan bakteri Gram negative zat warna yang diperoleh warna merah (Radji, 2011).

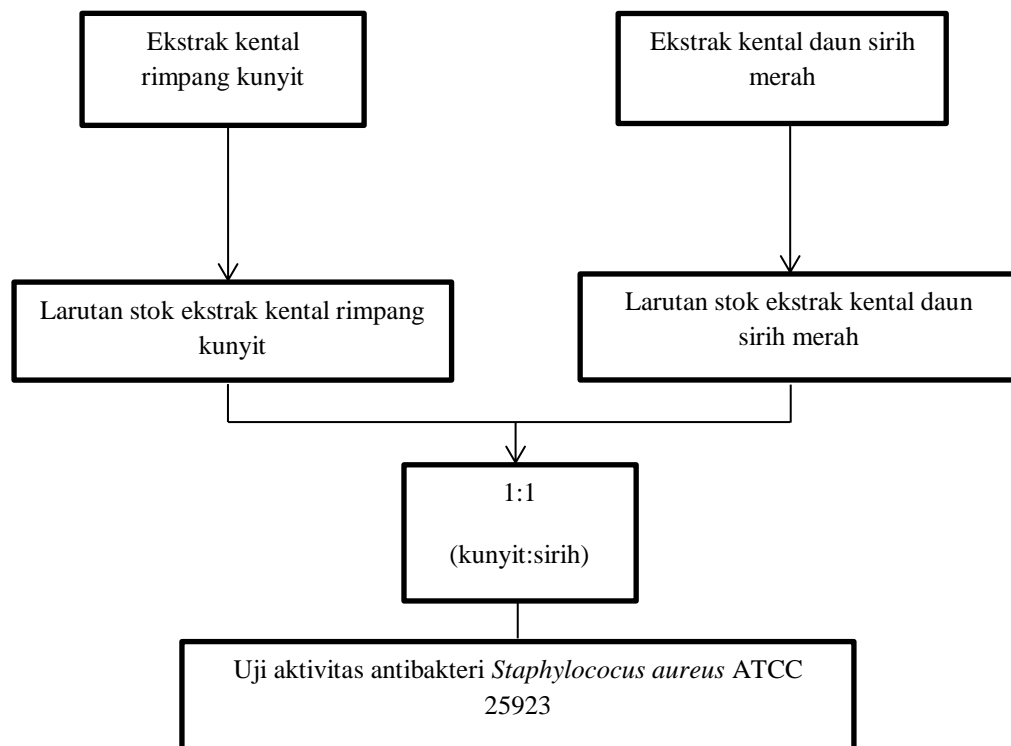
Bakteri uji *Staphylococcus aureus* diinokulasikan pada medium differensial VJA yang telah ditetesi tiga tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27°C. Hasil pengujian yaitu beberapa koloni dengan warna hitam dan medium sekitar koloni kuning, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi mannitol menjadi suasana asam dan mereduksi tellurit disekitar koloni berwarna hitam adanya fenol red maka medium disekitar koloni berwarna kuning karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi mannitol (Jawetz et al. 2007).

Identifikasi secara biokimia ada dua yaitu uji katalase dan koagulase. Uji katalase dapat dibuat dengan cara mencampurkan 0,5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dengan 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil positif akan terbentuk gelembung udara atau buih. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menyiapkan plasma darah kelinci sebanyak 0,5 ml ditambahkan 1 ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-4 jam. Reaksi positif akan terlihat penggumpalan, bila tidak terjadi penggumpalan berarti reaksi negatif.

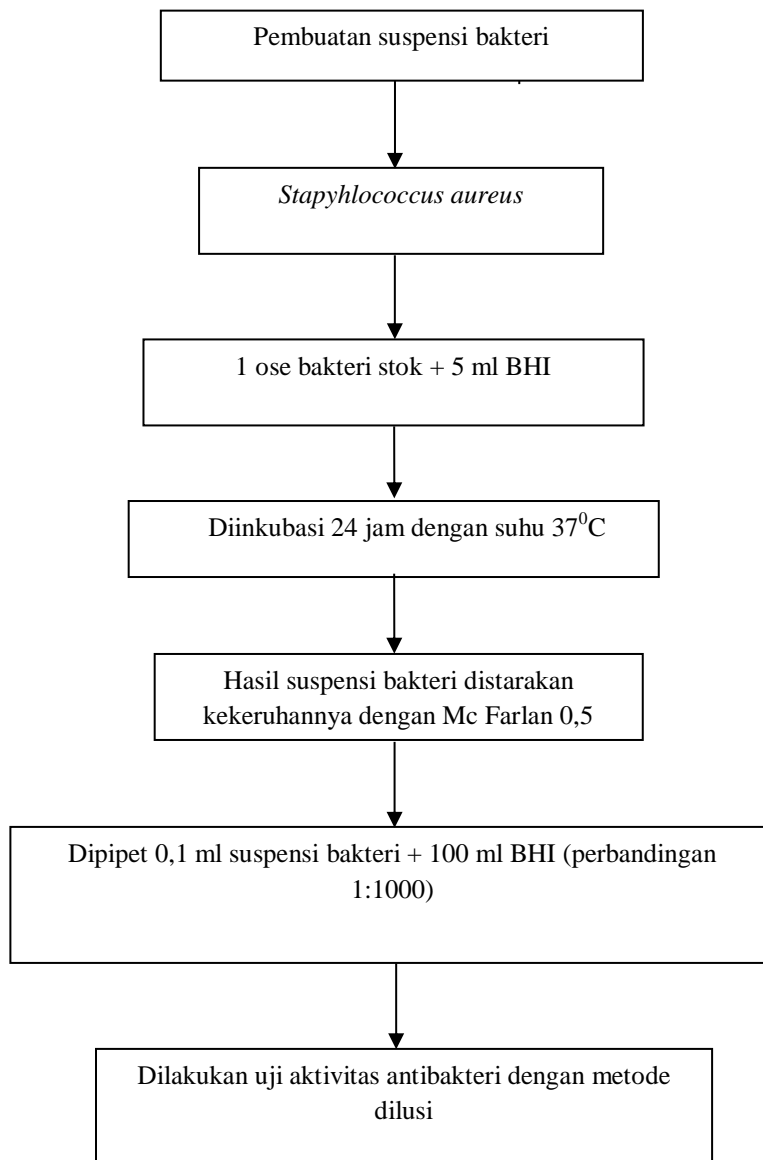
#### **11. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun sirih merah dan rimpang kunyit dengan metode dilusi**

Sediaan galenik yang berupa ekstrak etanolik, diuji aktivitas antibakterinya dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Metode yang digunakan adalah dilusi dimana metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 10 tabung steril secara aseptis. Metode ini memasukkan bahan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol positif dan negatif.

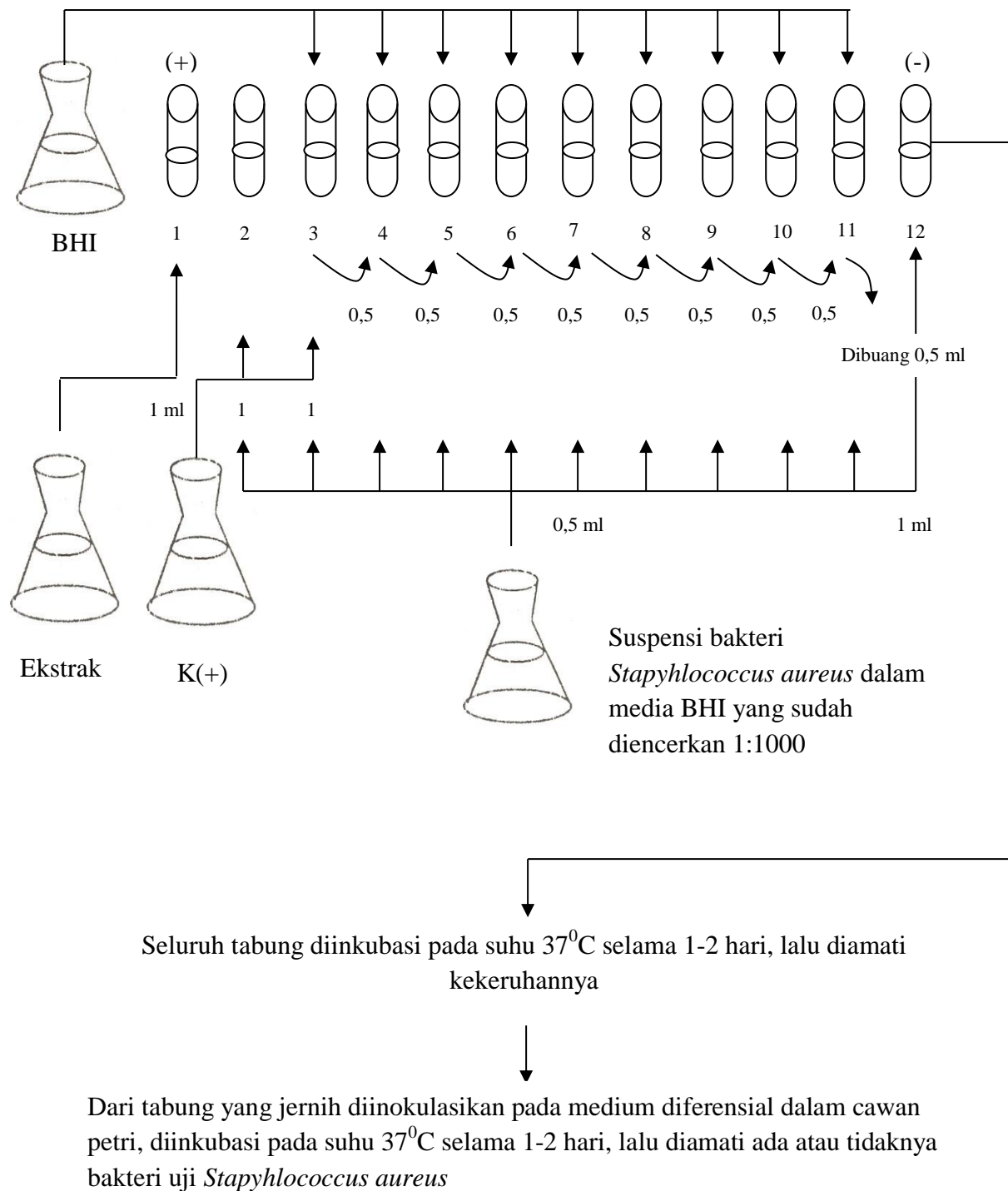
Pembuatan larutan stok ekstrak etanol sirih merah dan rimpang kunyit menggunakan pelarut aquades dengan tween 80 sebagai emulgator. Setelah itu dibuat beberapa konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,195%; 0,097%. Medium BHI dimasukkan sebanyak 0,5 ml ke dalam tiap tiap tabung reaksi secara aseptis kecuali tabung pertama dimana tabung pertama mengandung konsentrasi 50%, tabung kedua yang telah terisi 0,5 ml medium BHI ditambahkan 0,5 ml ekstrak dari tabung pertama, dari tabung kedua diambil 0,5 ml dan dimasukkan tabung ke 3, perlakuan ini dilakukan hingga tabung reaksi ke 10 dan 0,5 ml pada tabung ke 10 dibuang. Setelah itu dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu kamar. Selanjutnya pengujian dilakukan secara aseptis dengan jarum ose yang dipanaskan bertujuan untuk meminimalisir kontaminan, untuk mengambil suspensi bakteri di dalam tabung di pastikan jarum ose tidak terlalu panas karena dapat menyebabkan matinya bakteri. Kemudian menggoreskan pada permukaan media VJA (*Vogel Johnson Agar*). Setelah itu di masukan dalam inkubator, dan di inkubasi selama 24 jam. Setelah di inkubasi media VJA (*Vogel Johnson Agar*) di amati, ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. apabila tidak adanya koloni yang timbul pada daerah goresan maka dikatakan ekstrak daun sirih merah dan rimpang.



**Gambar 2 : pembuatan kombinasi ekstrak rimpang kunyit (*Curcumae longa*), dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*)**



**Gambar 3. Bagan kerja pembuatan suspensi bakteri dengan perbandingan 1:1000**



**Gambar 4 : Bagan penguji antibakteri ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi**

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 1. Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret. Hasil Determinasi rimpang kunyit berdasarkan C.A. Backer dan Brink R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968)

##### 1.1 Rimpang kunyit

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 - 73b - 74a - 75b - 76b - 333b - 334b - 335b - 336a -  
337b - 338a - 339b - 340a \_\_\_\_\_ **207. Zingiberaceae** 1a-2b-6b-7a \_\_\_\_\_ **12.**  
*Curcuma* 1a-2b-3a \_\_\_\_\_ *Curcuma longa* L (Lampiran 1)

##### 1.2 Daun sirih merah

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.  
(Lampiran 1)

## **2. Pengambilan sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit dan daun sirih merah. Pengambilan rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) ditandai dengan daun yang berada di permukaan tanah mengering sedangkan untuk pengambilan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) yang masih segar dan diambil dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah bobot rimpang kunyit sebesar 2500 dan daun sirih merah sebesar 3000 .

## **3. Pembuatan serbuk daun sirih merah dan rimpang kunyit**

Sampel dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara dicuci bersih dengan air mengalir kemudian ditiriskan dan dioven dengan suhu 40<sup>0</sup>C untuk menghindari kerusakan bahan aktif. Pengeringan sampel bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah penurunan kualitas sampel dan tumbuhnya jamur atau mikroorganisme lain. Daun sirih merah dan rimpang kunyit kering diblender kemudian diayak dengan ayakan nomor 60 untuk mendapatkan derajat kehalusan yang seragam. Pengeringan untuk rimpang kunyit dilakukan selama 5 hari sedangkan untuk daun sirih merah selama 7 hari. Setelah itu ditimbang untuk mengetahui bobot setelah dilakukan pengeringan.

Bobot rimpang kunyit yang telah kering 750 gram dan daun sirih merah 400 gram, persentase susut pengeringan daun sirih merah sebesar 13,33% dan untuk susut pengeringan rimpang kunyit sebesar 30% persentase susut pengeringan diperoleh dengan cara presentase bobot kering terhadap bobot basah. (Lampiran 8 dan 9).

#### 4. Hasil penetapan kadar lembab serbuk rimpang kunyit dan daun sirih merah

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit dan daun sirih merah dengan menggunakan *moisture balance* sesuai tabel 1 dan 2.

**Tabel 1. Hasil penetapan kadar lembab dalam serbuk rimpang kunyit**

Serbuk rimpang kunyit (g)	% Kadar lembab
2,00	11,5
2,00	8,4
2,00	9,5
Persentase rata-rata	$9,33 \pm 1,57$

**Tabel 2. Hasil penetapan kadar lembab dalam serbuk daun sirih merah**

Serbuk daun sirih merah (g)	% Kadar lembab
2,00	10,0
2,00	6,3
2,00	9,0
Persentase rata-rata	$8,43 \pm 1,91$

Alat yang digunakan untuk pengujian susut pengeringan yang terkandung di dalam serbuk adalah *moisture balance*. Penetapannya dilakukan dengan cara menimbang serbuk sebanyak 2 gram dilakukan sebanyak 3 kali pengujian, dimasukkan dalam alat *moisture balance*, ditunggu sampai bobot konstan yang ditandai dengan bunyi. Hasil pengujian kadar air pada rimpang kunyit dan serbuk daun sirih merah berturut-turut adalah 9,33% dan 8,43%. Hasil ini sudah sesuai dengan persyaratan yaitu kurang dari 10% agar reaksi enzimatis tidak berlangsung ke dalam sel dan mencegah pertumbuhan jamur (Depkes, 1986).

#### 5. Pembuatan ekstrak daun sirih merah dan rimpang kunyit

Serbuk daun sirih merah atau rimpang kunyit yang telah ditimbang sebanyak 300 g dimasukkan ke dalam bejana, kemudian ditambah etanol 70 % sebanyak 2250 ml, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, berulang-ulang di aduk minimal sehari 3 kali pengadukan.

**5.1. Rimpang Kunyit.** Hasil rendemen ekstrak rimpang kunyit terhadap serbuk kering yaitu dari berat serbuk kering rimpang kunyit 300 gram diperoleh berat ekstrak kental 55,04 gram sehingga diperoleh rendemen sebesar 18,38%. (Lampiran 10).

**Tabel 3. Data rendemen hasil pembuatan ekstrak rimpang kunyit**

Bobot kering (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
300	55,04	18,34

**5.2. Serbuk Sirih Merah.** Hasil rendemen ekstrak daun sirih merah terhadap serbuk kering yaitu dari berat serbuk kering daun sirih merah 300 gram diperoleh berat ekstrak kental 20,647 gram sehingga diperoleh rendemen sebesar 6,88% (Lampiran 11)

**Tabel 4. Data rendemen hasil pembuatan ekstrak sirih merah**

Bobot kering (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
300	20,647	6,88%

## 6. Hasil pengujian bebas alkohol ekstrak etanolik daun sirih merah dan rimpang kunyit

**Tabel 5. Hasil pengujian bebas alkohol ekstrak daun sirih merah dan rimpang kunyit**

Senyawa	Esterifikasi	Hasil Uji	
		Ekstrak	Pustaka
Alkohol	Ekstrak + $\text{CH}_3\text{COOH}$ + $\text{H}_2\text{SO}_4$ pekat kemudian dipanaskan	Tidak berbau ester yang khas dari alkohol	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari alkohol

Hasil uji ekstrak daun sirih merah dan rimpang kunyit menunjukkan sudah bebas dari pelarut yaitu etanol 70 % yang ditunjukkan dengan tidak

terbentuknya bau ester yang khas dari alkohol yang menandakan terdapatnya alkohol dalam suatu ekstrak. alkohol yang tersisa pada ekstrak akan menghalangi pertumbuhan bakteri dengan alkohol bukan dengan ekstrak uji. (Lampiran 6)

## 7. Hasil Pengujian Kadar Lembab Ekstrak Rimpang Kunyit dan Daun Sirih Merah

**Tabel 6. Hasil penetapan kadar lembab dalam ekstrak rimpang kunyit**

Ekstrak rimpang kunyit (g)	% Kadar lembab
2,00	
2,00	
2,00	
Persentase rata-rata	

**Tabel 7. Hasil penetapan kadar lembab dalam ekstrak daun sirih merah**

Serbuk rimpang kunyit (g)	% Kadar lembab
2,00	
2,00	
2,00	
Persentase rata-rata	

## 8. Hasil identifikasi kandungan kimia

Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk daun sirih merah dan rimpang kunyit

**Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanolik daun sirih merah dan rimpang kunyit**

Senyawa	Prosedur	Pustaka (Robinson, 1995)	Interprestasi hasil	
			Sirih merah	Kunyit
Saponin	Ekstrak + air panas + didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik	Hasil positif jika terbentuk buih yang mantab selama kurang lebih 10 menit	Tidak terbentuk buih (-)	Terbentuk buih setinggi 1-10 cm ditambah HCl 2 N buih tidak hilang (+)
Flavonoid	Ekstrak + sedikit serbuk Mg + etanol-HCl(1:1) + pelarut amyl alkohol, di kocok kuat-kuat, biarkan beberapa saat	Terbentuk warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol	Tidak ada lapisan warna kuning/merah pada lapisan amil alkohol (-)	Merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (+)

agar memisah				
Tanin	ekstrak 0,5 gr + aquades rendam dan panaskan selama 3-5 menit + 2 tetes larutan NaCl 10% + FeCl <sub>3</sub>	Hasil positif jika warna coklat kehijauan atau biru kehitaman	Campuran berwarna hitam kehijauan (+)	Hijau kehitaman (+)

Hasil identifikasi kandungan kimia dari daun sirih merah dan rimpang kunyit telah memberikan hasil yang sesuai dengan pustaka. Hal ini menunjukkan bahwa daun sirih merah dan rimpang kunyit mengandung zat aktif, misalnya saponin, flavonoid, dan tannin yang diperkirakan mempunyai aktivitas antibakteri. (Lampiran 7)

### 9. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji

Biakan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 di ambil menggunakan ose masing-masing 1-2 ose kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril berisi BHI yang kekeruhannya di sesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland untuk difusi. Selanjutnya dari biakan murni diambil 2 ose dimasukkan dalam cairan NaCl 5 ml yang kekeruhannya sama dengan standar Mc Farland 0,5 untuk dilusi kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### 10. Hasil identifikasi bakteri uji

Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari suspensi biakan murni digoreskan pada medium *Vogel Johnson Agar* yang telah di campur dengan kalium telurit 1 % kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil secara goresan adalah warna koloninya hitam karena *Staphylococcus aureus*

ATCC 25923 dapat memfermentasi mannitol menjadi suasana asam dan mereduksi tellurit dan disekitar koloni terdapat berwarna kuning karena disebabkan adanya fenol red maka dapat mereduksi mannitol dan warna medium di sekitar koloni berwarna kuning. Berdasarkan pengamatan secara mikroskopik menggunakan pengecatan gram, bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna ungu karena dier kristal violet pada gram positif maka terbentuk warna ungu ( Pelczar, 1986) berbentuk bulat dengan susunan seperti buah anggur.

**Tabel 9. Hasil uji katalase dan koagulase bakteri uji**

No.	Bakteri	Katalase	Koagulase
1.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+

Uji biokimia secara katalase memberikan hasil positif (timbulnya gelembung udara) pada *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan koloni *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase apabila ditambah air maka akan mengurai menjadi  $H_2$  dan  $O_2$  yang ditandai dengan timbulnya gelembung udara, sedangkan uji biokimia secara koagulase memberikan hasil adanya penggumpalan setelah di inkubasi. Hasil yang didapat memberikan hasil yang sesuai dengan pustaka. ( Hadioetomo, 1990 ).

#### **11. Hasil pengujian antibakteri daun sirih merah, rimpang kunyit dan kombinasi**

Ekstrak etanolik daun sirih merah, rimpang kunyit dan kombinasi yang diperoleh, dilakukan pengujian daya antibakteri *Staphylococcus aureus*, dengan menggunakan metode dilusi dan dilakukan replikasi sebanyak 3x percobaan. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%;

1,5625%; 0,7812%; 0,3906%; 0,1953%; 0,0976% kontrol negatif dan kontrol positif. Hasil perhitungan konsentrasi larutan uji selengkapnya dapat dilihat pada (Lampiran 20).

Hasil dari pengujian antibakteri dari tiap ekstrak tidak menghitung Konsentrasi Hambat minimum (KHM), karena ekstrak daun sirih merah, kunyit dan kombinasi kedua nya berwarna, sehingga tidak dapat diketahui pertumbuhan bakteri pada ekstrak. Maka dalam penelitian ini hanya dapat mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan cara sediaan pada tabung uji diinokulasikan pada medium VJA untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan dengan mengamati konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri pada medium. Hasil uji dilusi ekstrak daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 10. Hasil KBM ekstrak etanolik daun sirih merah, rimpang kunyit dan kombinasi terhadap *Staphylococcus aureus* setelah diinokulasi pada media diferensial**

No	Konsentrasi Ekstrak etanolik (%)	Kultur pada media diferensial								
		Daun Sirih Merah			Rimpang Kunyit			Kombinasi		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
1.	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	25	+	+	+	+	+	+	-	-	-
3.	12,5	+	+	+	+	+	+	-	-	-
4.	6,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	3,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	1,5626	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	0,7812	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	0,3906	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9.	0,1953	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	0,0976	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11.	kontrol negative	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.	kontrol positif	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan:

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri  
 Kontrol negatif : Larutan stok (ekstrak & amoksisilin)  
 Kontrol positif : Suspensi bakteri

Dari tabel diatas didapat hasil uji dilusi ekstrak daun sirih merah, rimpang kunyit dan kombinasi keduanya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa konsentrasi bunuh minimum (KBM) masing-masing memiliki konsentrasi sebagai berikut : ekstrak daun sirih merah 25%, rimpang kunyit 25%, kombinasi keduanya 12,5%. Dilihat dari hasil yang telah diperoleh kombinasi dari ekstrak rimpang kunyit dan daun sirih merah memiliki efek sinergis yang meningkatkan daya antibakteri.

Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) dimana pada penelitian sebelumnya ekstrak rimpang kunyit dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* karena memiliki senyawa kurkuminoid (Andrew *et al*, 2016) sedangkan kurkumin adalah suatu senyawa fenolik. Senyawa sesquiterpen dalam minyak atsiri kunyit merupakan turunan dari senyawa terpen seperti alkohol yang bersifat bakterisida dengan merusak struktur tersier protein bakteri atau denaturasi protein (Tarwiyah, 2001). Tidak hanya menggunakan rimpang kunyit tetapi juga memilih daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav ) karena mengandung senyawa aktif yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah fenol, flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin. Fenol dan derivatnya mempunyai daya antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sel dan denaturasi protein. Adanya fenol yang merupakan senyawa toksik mengakibatkan struktur tiga dimensi protein terganggu dan terbuka menjadi struktur acak tanpa adanya pada penelitian kerusakan pada struktur kerangka kovalen. Hal ini mengakibatkan

protein berubah sifat namun deretan asam amino protein tersebut masih tetap. Selanjutnya aktivitas biologisnya menjadi rusak sehingga protein tidak dapat melakukan fungsinya. Dengan terdenaturasinya protein sel maka semua aktivitas metabolisme sel dikatalis oleh enzim sehingga bakteri tidak dapat melakukan fungsinya (Nurrokhman, 2006). Flavonoid berfungsi sebagai bakterostatik dengan cara merusak membran sel bakteri karena sifatnya yang lipofilik selain itu juga berfungsi sebagai antiinflamasi. Alkaloid berperan sebagai antimikroba karena sifatnya yang dapat berikatan dengan DNA. Adanya zat yang berada diantara DNA akan menghambat replikasi DNA itu sendiri, akibatnya terjadi gangguan replikasi DNA yang akhirnya akan menyebabkan kematian sel. Selain itu alkaloid juga bersifat detoksifikan yang dapat menetralkan racun. Saponin sebagai deterjen yang memiliki molekul amfipatik (mengandung bagian hidrofilik dan hidrofobik) yang dapat melarutkan protein membran. Tannin merupakan polifenol yang larut dalam air, mekanisme antibakterinya yaitu dengan cara menghambat enzim ekstra seluler mikroba, mengambil alih substrat yang dibutuhkan pada pertumbuhan mikroba, atau bekerja langsung pada metabolisme dengan cara menghambat fosforilasi oksidasi (Dhita, 2013).

## **12. Hasil pengujian daya antibakteri antibiotik amoksisilin**

Pengujian daya antibakteri menggunakan antibiotik amoksisilin sebagai kontrol positif. Hasil inokulasi amoksisilin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada tabel 11.

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

No	Konsentrasi %	Hasil inokulasi		
		Antibiotik Amoksisilin		
		I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	
2	2,5	-	-	-
3	1,25	-	-	-
4	0,625	-	-	-
5	0,312	-	-	-
6	0,156	+	+	-
7	0,078	+	+	+
8	0,039	+	+	+
9	0,019	+	+	+
10	0,0097	+	+	+
11	0,0048	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Larutan stok (ekstrak, fraksi & amoksisilin)

Kontrol (+) : Suspensi bakteri

Konsentrasi Bunuh Minimum ( KBM ) amoksisilin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 0,312% sehingga amoksisilin memiliki konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri sebesar 0,312%. Amoksisillin memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang lebih rendah di bandingkan dengan ekstrak rimpang kunyit, daun sirih merah dan kombinasi keduanya. Maka dapat disimpulkan bahwa amoksisillin masih menjadi obat pilihan dalam membunuh bakteri.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

Pertama, ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dengan ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Kedua, Nilai konsentrasi bunuh minimum ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) sebesar 50%, ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebesar 50% dan kombinasi sebesar 12,5% dengan metode dilusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Ketiga, kombinasi ekstrak etanol rimpang (*Curcuma longa* L) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada perbandingan 1:1 memiliki daya antibakteri yang lebih baik dari ekstrak tunggal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

#### **B. Saran**

Dari Penelitian yang telah dilaksanakan, disarankan pada penelitian selanjutnya agar didapatkan hasil yang lebih maksimal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanolik daun sirih sirih merah dan rimpang kunyit dengan metode ekstraksi dan pelarut lain.
2. Perlu Dianjurkan menggunakan kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan variasi perbandingan konsentrasi
3. Perlu dilanjutkan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) secara *in vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, Azwar. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta : Salemba Medika
- Ajizah A. 2004. *Sensitifitas Salmonella thypimurium terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L, Bioscientiae, Vol. 1, No. 1, : 31-8.*
- Akiyama H, Kazuyasu Fujii, Osamu Y, Takashi O, Keiji I. 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Against Staphylococcus aureus. *Journal of Antimicrobial Chemotheraphy* 48 : 487-491.
- Anief M. 2000. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktek Cetakan ke-9*. Yogyakarta : Gajah Mada University – Press.
- Arif et al, 2000, Kapita Selekta kedokteran Edisi III Jilid 2, Media Aesculapiusn FK UI, Jakarta.
- Bintang I.A.K dan A.G Nataamijaya. 2005. *Pengaruh Penambahan Tepung Kunyit (Curcuma domestica val) dalam ransum broiler.*
- Buckle K.A. et al. 2007. *Ilmu Pangan Cetakan keempat*. Penerjemah : Hari Purnomo dan Andiono. Jakarta : UI Press.
- Chen, I. N., C. Chang, C. Wang, Y. Shyu and T. L. Chang. 2008. Antioxidant and antimicrobial activity of *Zingiberaceae* plants in Taiwan. *Plant Foods*. 63:15.
- Damayanti, L. 2006. *Koleksi Bryopyta Taman Lumut Kebun Raya Cibodas*. Cibodas: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Cibodas.
- Depkes RI. 1979. *Farmakope Indonesia* Edisi Ketiga. Jakarta: Depkes RI.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Depkes RI.
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Depkes RI.
- Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Depkes RI. 1994, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, 111, Binarupa Aksara, Jakarta
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Depkes RI, Jakarta.

- Depkes RI , 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Depkes RI, Jakarta
- Dwidjoseputro D. 1984. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Surabaya : Djambatan
- Dzulkarnain, B., D. Sundari dan A. Chosin., 1996. Tanaman obat bersifat antibakteri di Indonesia. Cermin Dunia Kedokteran. Dep. Kesehatan RI. Jakarta.
- Elistina, M. D., 2005, Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dari Daun Sirih (*Piper betle* L), *Skripsi*, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Udayana, Denpasar
- Ganiswara, S.G. (1995). Farmakologi dan terapi edisi 4. Jakarta :FKUI.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Hadioetomo R S. 1990. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta : PT. Gramedia.
- Hapsoh dan Hasanah Y. 2011. *Budidaya Tanaman Obat dan Rempah*. USU Press. Medan.
- Harborne, J.B., (1987), *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Harminta. 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metoda dan Cara Perhitungannya*. Majalah Kefarmasian Vol.1
- Hastari R. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah dan Batang Tanaman Pisang Ambon ( Musa paradisiaca Var. Sapientum ) terhadap Staphylococcus aureus[skripsi]*. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Heinrich, M. 2009. Farmakognosi dan fitoterapi. Buku Kedokteran Indonesia. Jakarta.
- Hernani dan Rahardjo. 2002. Tanaman berkhasiat antioksidan. Swadaya. Jakarta.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid I dan II*. Terjemahan : Badan Libang Kehutanan. Cetakan I. Koperasi Karyawan Departemen Kehutanan Jakarta Pusat.
- Hugo, W.B., dan Russel, A.D., 1987, *Pharmaceutical Microbiology* 4 th ed, BSPLondon

- Irianto, K., 2006. Mikrobiologi, menguak dunia mikroorganisme jilid 2. Yrama Widya, Bandung.
- Jarikasem, S. Thubthimthed, S. Chawanoraseth K. and Suntornanast, T. (2005). Essential Oils from Three Curcuma Species Collected in Thailand. Acta Hort. 677, vol 3.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi ke-20, 213, EGC, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta
- Jawetz, E, J. melnick, et al., 2005. Jakarta: EGC Jawetz, melnick & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran.
- Lay, Bibiana W. dan Hastowo, Sugyo, (1992), *Mikrobiologi*, Rajawali Press, Jakarta.
- Lindop L. 2016. Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* [Abstrak]
- Mahendra B. 2005. *Seri Agrosehat : 13 Jenis Tanaman Obat Ampuh*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Mardiana L. 2004. *Kanker pada Wanita Pencegahan dan Pengobatan dengan Tanaman Obat*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Masduki. (1996). Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Jakarta: Penerbit Cermin Dunia Kedokteran. Hal. 23-24.
- Meilisa. 2009. Uji aktivitas antibakteri dan formulasi dalam sediaan kapsul dari ekstrak etanol rimpang tumbuhan (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap beberapa bakteri. Skripsi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Mutschler, E. 1991. *dinamika Obat* Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi. Diterjemahkan Oleh Widiyanto. M.B dan A.S. Ranti. Edisi V. ITB. Bandung.
- Padiangan, M., 2010. Stabilitas antimikroba ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap mikroba patogen. Media Unika. 73(4): 365-373.
- Parwata O.A, Dewi F.S. 2008. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas (Alpinia galangal L.)* Bukit Jimbaran : Jurnal Kimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. Hal 100-104.
- Pratiwi, ST. (2008). Mikrobiologi Farmasi. Yogyakarta: Penerbit Erlangga. Halaman 176.

- Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan, 1986, Penerjemah, Ratna Siri Hadioetomo dkk. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*, Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pelczar, Michael, J., E.C.S Chan. 1988. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, Jakarta : UI Press.
- Pramono Suwijoyo. 2006. *Peningkatan Efektivitas dan Daya Saing Obat Alam Indonesia*. Yogyakarta ; Universitas Gadjah Mada.
- Radji, Maksum. 2009. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, 107, 118, 201-207, 295, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-6. a.b. Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung.
- Rukmana, R., 2004. *Kacang Hijau: Budidaya dan Pascapanen*. Kanisius, Yogyakarta.
- Setiawati A. 2013. *Interaksi Obat*. Dalam : Gunawan, S.E. *Farmakologi dan Terapi* Edisi 5. Jakarta : Badan Penerbit FKUI.
- Sudewo B. 2005. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta : PT Agromedia Pustaka.
- Sudewo B. 2007. *Tanaman Obat Populer Penggempur Aneka Penyakit*. Jakarta : PT Agromedia Pustaka.
- Sudewo B. 2010. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta : PT Agromedia Pustaka
- Supardi, dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan Dan Keamanan Produk Pangan*. Bandung : Penerbit Alumni.
- Suriawiria U. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung : Angkasa.
- Suthisut, D., P. G. Fields, and A. Chandrapatya. 2011. Fumigation toxicity of essential oils from three Thai plants (Zingiberaceae) and their major compounds against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. *J. Stored Prod. Res.* 47: 222-230.

- Syarief E. 2006. *Resep Sirih Wulung untuk Putih Merona hingga Kanker Ganas*. Dalam Majalah Trubus No. 434 Tahun XXXVII Januari 2006 hlm 88.
- Sylvia, T. Pratiwi, S.Si, M.Si, 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadj Mada Yogyakarta, Penerbit Erlangga, Jakarta, Hal 154-161, 190-191.
- Syukur. C, dan Hernani, 2001, *Budidaya Tanaman Obat Komersial Penebar Swadaya*, Jakarta.
- Tarwiyah, 2001. Minyak Atsiri Jahe, <http://www.ristek.go.id.dikutip> tgl 11.06.2017
- Thomas A.N.S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta : Kanisius.
- Tortora Gerard J. et. al. 2001. *Microbiology : An Introduction*. 7th ed. Pearson Education, USA. Available from: <http://www.fk.uwks.ac.id/elib/Arsip/Departemen/Mikrobiologi/inp.pdf>. (Accessed 11 June 2017)
- Voight, R., 1994. *Buku pelajaran teknologi farmasi edisi kelima*. Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Volk, W.A and M.F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Winarto, W.P., 2005. *Khasiat dan manfaat kunyit*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Yendriwati, Henny. Efek Antibakteri Sediaan Daun Sirih (*Piper Betle* Linn), Obat Kumur Minyak Essensial dan Povidone Iodine 1% Terhadap *Streptococcus Mutans*. *Dentika Dental Journal* 2008; 13 (2): 145-148

**L**

**A**

**M**

**P**

**I**

**R**

**A**

**N**

## Lampiran 1. Surat keterangan determinasi



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

Nomor : 014/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Vega Lacerta Venusia Auriga Erida  
NIM : 17141057B  
Alamat : Program Studi D3 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Curcuma longa* L.  
Synonym : *Curcuma domestica* Val.  
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
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-73b-74a-75b-76b-333b-  
334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a **207. Zingiberaceae**  
1a-2b-6b-7a **12. Curcuma**  
1a-2b-3a **Curcuma longa L.**

### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : herba menahun, dengan rimpang yang basah dan aromatik, rimpang bagian luar berwarna oranye hingga oranye coklat, bagian tengah oranye hingga kuning tua. Akar : melekat pada rimpang, serabut, berwarna putih hingga kuning kotor. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, berbentuk ellips atau lonjong-menjorong sampai lonjong-melanset, panjang 20-55 cm, lebar 12.5-19 cm, berwarna hijau permanen secara keseluruhan, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung runcing atau meruncing, pangkal runcing hingga tumpul, tepi rata; tulang daun menyirip. Bunga : terletak di ujung (terminal), terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa bunga majemuk tipe bulir, terdiri atas 3-7 bunga, tertutup oleh daun pelindung bunga (braktea); braktea berwarna putih hingga hijau muda, seringkali bertotol-totol coklat pada bagian ujungnya; kelopak berbentuk tabung silindris pendek, bercuping 2-3, kelopak hijau keputihan; tabung mahkota berbentuk seperti corong, cuping mahkota berbentuk oval atau memanjang, berwarna putih; labellum bulat telur, panjang 15-16 mm, lebar 16-17 mm, berwarna oranye; staminoda berwarna oranye. Buah : berbentuk kapsul, kering hingga basah. Biji : bulat, sedikit hingga banyak.

Surakarta, 4 Januari 2017

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan



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

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



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

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

Nama Pemesan : Vega Lacerta Venusia Auriga Erida  
NIM : 17141057B  
Alamat : Program Studi D3 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

#### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

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

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

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

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitat : 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, 4 Januari 2017

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan



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

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

**Lampiran 2. Gambar Rimpang Kunyit dan Daun Sirih Merah**



Rimpang kunyit segar



Daun sirih merah segar

**Lampiran 3. Gambar serbuk rimpang kunyit dan daun sirih merah**



Serbuk daun sirih merah



Serbuk rimpang kunyit

**Lampiran 4. Gambar alat yang digunakan**



vortex



Mousture Balance



Inkubator



Evaporator

**Lampiran 5. Gambar ekstrak rimpang kunyit dan ekstrak daun sirih merah**



Ekstrak sirih merah



Ekstrak rimpang kunyit

**Lampiran 6. Uji bebas etanol**





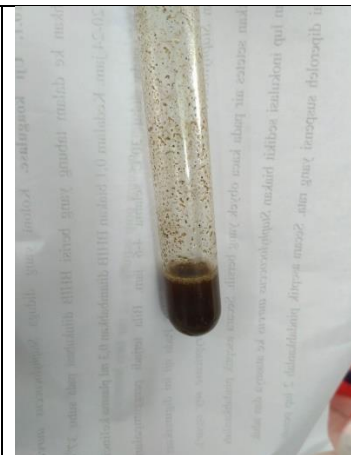



Sirih merah



Kunyit

**Lampiran 7. Gambar identifikasi senyawa**

Senyawa	Sirih merah	Hasil	Kunyit	Hasil
Flavonoid		-		+

<b>Saponin</b>		-		+
<b>Tanin</b>		+		+

**Lampiran 8. Perhitungan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit**

Bobot rimpang kunyit segar : 2500 gram

Serbuk rimpang kunyit : 750 gram

$$\begin{aligned}
 \% \text{ susut pengeringan} &= \frac{\text{bobot serbuk rimpang kunyit}}{\text{bobot rimpang kunyit segar}} \times 100\% \\
 &= \frac{750 \text{ gram}}{2500 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 30\%
 \end{aligned}$$

**Lampiran 9. Perhitungan susut pengeringan serbuk daun sirih merah**

Bobot daun sirih merah segar : 3000 gram

Serbuk daun sirih merah : 400 gram

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Susut pengeringan} &= \frac{\text{bobot serbuk daun sirih merah}}{\text{bobot daun sirih merah segar}} \times 100\% \\
 &= \frac{400 \text{ gram}}{3000 \text{ gram}} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$= 13,33\%$$

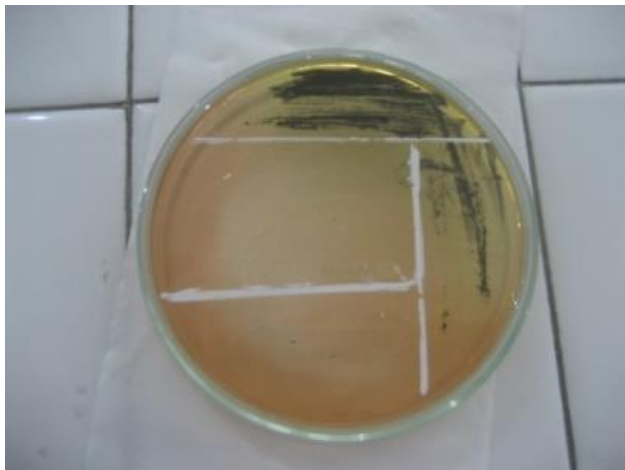
**Lampiran 10. Perhitungan rendemen ekstrak etanol rimpang kunyit**

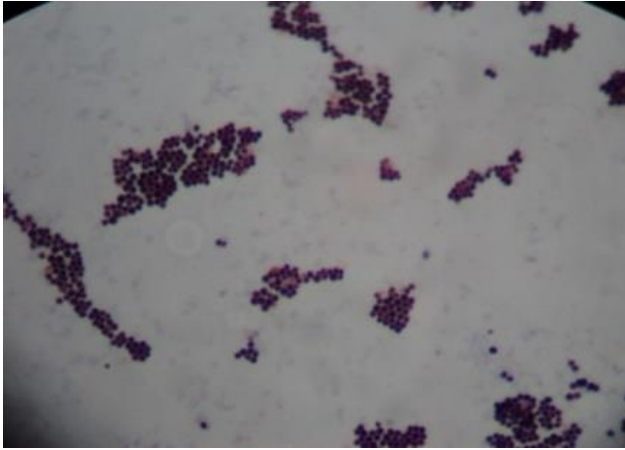
Berat wadah + zat : 185,607 gram  
 Berat wadah kosong : 130,563 gram -  
 Berat ekstrak 55,044 gram  
 % Rendemen :  $\frac{55,044 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\%$   
 : 18,348%

**Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun sirih merah**

Berat wadah + zat : 173,210 gram  
 Berat wadah kosong : 152,563 gram -  
 Berat ekstrak 20,647 gram  
 % Rendemen :  $\frac{20,647 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\%$   
 : 6,88%

**Lampiran 12. Gambar identifikasi bakteri Staphylococcus aureus**





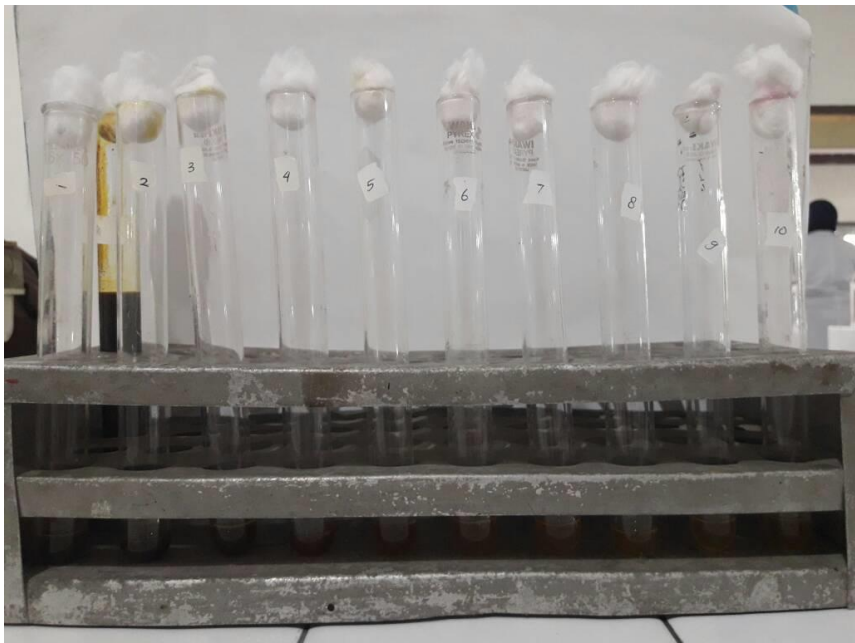
**Lampiran 13. Gambar tabung dilusi ekstrak rimpang kunyit**



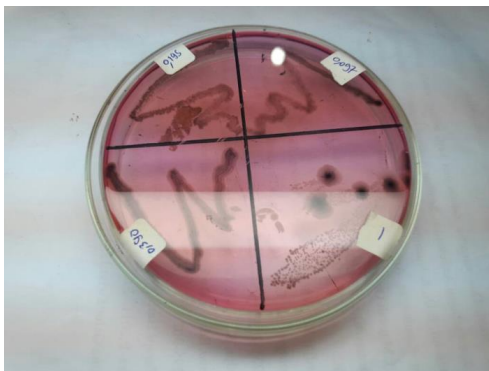
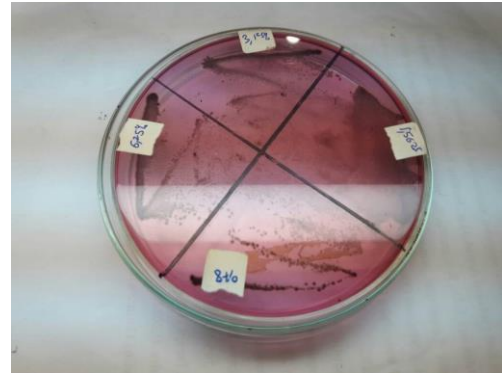
**Lampiran 14. Gambar tabung dilusi ekstrak sirih merah**



**Lampiran 15. Gambar tabung dilusi kombinasi**

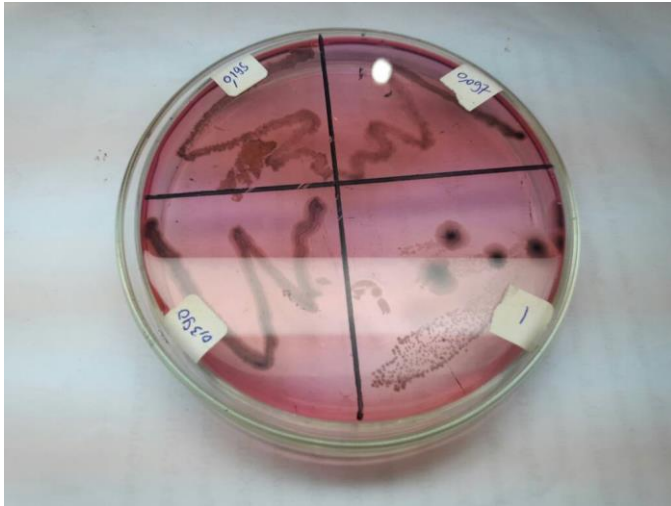


**Lampiran 16. Gambar uji antibakteri ekstrak kombinasi**

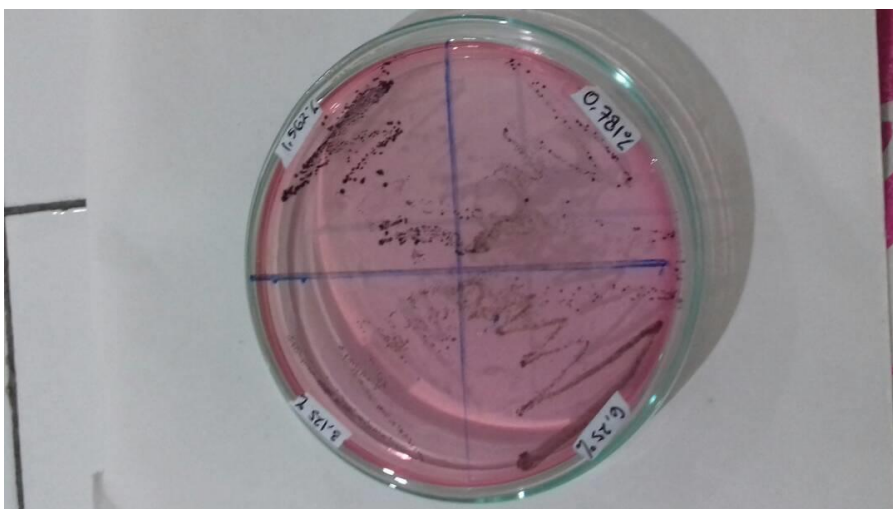
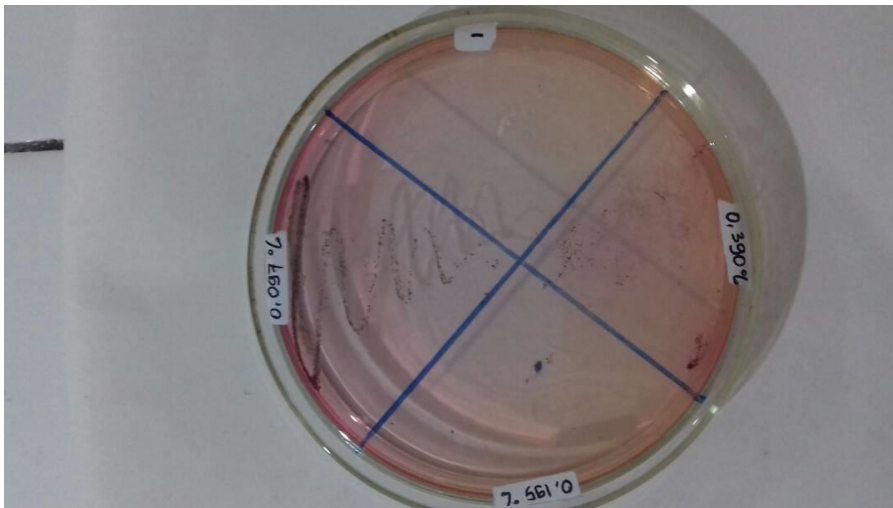
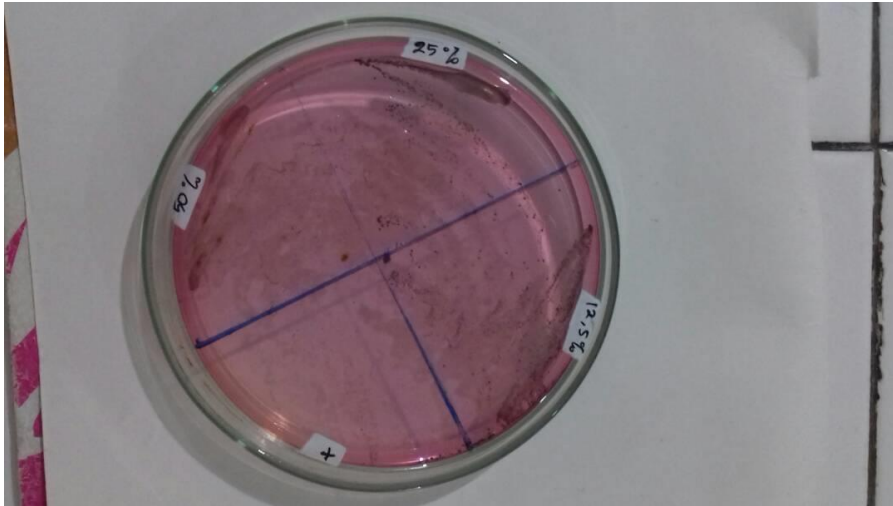


**Lampiran 17. Gambar uji antibakteri ekstrak rimpang kunyit**





**Lampiran 18. Gambar uji antibakteri ekstrak sirih merah**



#### **Lampiran 19. Uji katalase dan koagulasi**



#### **Lampiran 20. Perhitungan konsentrasi larutan uji**

Larutan stok 50% = %  $\frac{b}{v}$  = 50 gram/100 ml

Konsentrasi 50% = 0,5 gram/ ml

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 25\%} &= V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\
 &0,5 \cdot 50\% &= 1 \cdot C2 \\
 &C2 &= 25\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 12,5\%} &= V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\
 &0,5 \cdot 25\% &= 1 \cdot C2 \\
 &C2 &= 12,5\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 6,25\%} &= V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\
 &0,5 \cdot 12,5\% &= 1 \cdot C2 \\
 &C2 &= 6,25\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 3,125\%} &= V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\
 &0,5 \cdot 6,25\% &= 1 \cdot C2 \\
 &C2 &= 3,125\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 1,5625\%} &= V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\
 &0,5 \cdot 3,125\% &= 1 \cdot C2 \\
 &C2 &= 1,5625\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 0,78125\%} &= V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\
 &0,5 \cdot 1,5625\% &= 1 \cdot C2 \\
 &C2 &= 0,78125\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 0,390\%} &= V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\
 &0,5 \cdot 0,625\% &= 1 \cdot C2 \\
 &C2 &= 0,390\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 0,195\%} &= V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\
 &0,5 \cdot 0,390\% &= 1 \cdot C2
 \end{aligned}$$

$$C_2 = 0,195\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,097\% &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 0,195\% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,097\% \end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) berisi 1 ml ekstrak

Kontrol positif (+) berisi 1 ml suspensi bakteri

### **Lampiran 21. Perhitungan pengujian dosis antibiotik amoksisilin**

$$\begin{aligned} \text{Dosis amoksisilin} &= 125 \text{ mg}/5 \text{ ml} = 25 \text{ mg/mL} \\ &= 2,5 \text{ g}/100 \text{ mL} = 2,5\% \text{ } ^b/v \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi 1} = 2,5 \text{ g}/100 \text{ mL}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 3} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 1,25\% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,625\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 4} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 0,625\% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,312\% \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 6} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 0,156 \% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,078 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 7} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 0,078 \% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,039 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 8} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 0,039 \% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,019 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 9} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 0,019 \% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,0097 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 10} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 0,0097 \% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,0048 \%\end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) berisi 1 mL antibiotik amoksisilin

Kontrol positif (+) berisi 1 mL suspensi bakteri