

## Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Andini rahayu putri<sup>1</sup>, Asdinar<sup>2</sup>, Fatimah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Stikes Panrita Husada Bulukumba, Indonesia

<sup>2</sup>Prodi DIII Analis Kesehatan

E-mail: [andinirahayuputri35@gmail.com](mailto:andinirahayuputri35@gmail.com)

### **Info Artikel**

*Sejarah Artikel :*

Diterima : 15.11.2023

Disetujui : 25.11.2023

Dipublikasikan :

30.11.2023

### **Kata Kunci:**

Uji Daya Hambat,  
Ekstrak Daun sirih  
merah, *Staphylococcus*  
*aureus*.

### **Keywords:**

*Test of the inhibitory*  
*power of red betel leaf*  
*extract,*  
*Staphylococcus*  
*aureus.*

### **Abstrak**

**Latar Belakang :** Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi, seperti infeksi supuratif dengan angka keparahan yang bervariasi. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak dijumpai di Indonesia yang bermanfaat sebagai obat, mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan minyak atsiri yang bersifat antibakteri. **Tujuan :** Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui uji daya hambat ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. **Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian *Experimental Laboratories* menggunakan *disc deffision* untuk melihat efek daun Sirih merah. Dimana ekstrak daun sirih merah diperoleh dengan metode maserasi yang kemudian di variasikan kedalam beberapa perlakuan konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% serta kontrol positif tetracylin dan kontrol negatif aquades. **Hasil Penelitian :** Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan aktivitas kuat. Dari hasil analisis statistik menunjukkan masing-masing data terdistribusi dengan normal yang memenuhi syarat untuk melakukan uji *One-Way Anova* dari hasil akhir menunjukkan nilai  $p < 0,005$  sehingga paling tidak terdapat rerata bermakna antara kelompok data. **Kesimpulan :** Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

### **Abstract**

**Background:** *Staphylococcus aureus* bacteria is a bacteria that can cause infectious diseases, such as suppurative infections with varying degrees of severity. Red betel leaf (*Piper crocatum*) is one of the herbal plants often found in Indonesia which is useful as medicine, containing flavonoids, alkaloids, saponins and essential oils which are antibacterial. **Objective:** The aim of this research is to determine the inhibitory power of red betel leaf extract on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. **Method:** This research is an *Experimental Laboratories* research using disc definition to see the effects of red betel leaves. Where red betel leaf extract was obtained using the maceration method which was then varied into several concentration treatments, namely 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% as well as a positive control of tetracycline and a negative control of distilled water. **Research Results:** The research results show that red betel leaf extract is able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria with strong activity. The results of the statistical analysis show that each data is normally distributed which meets the requirements for carrying out the *One-Way Anova* test. The final results show a p value  $< 0.001$  so that there is at least a significant mean between the data groups. **Conclusion:** The conclusion of this research is that red betel leaf extract with concentrations of 40%, 60%, 80% and 100% is effective in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang dapat diolah menjadi berbagai macam obat. Obat-obatan tradisional tidak hanya digunakan dalam fase pengobatan saja. Melainkan juga digunakan dalam fase preventif, promotif dan rehabilitasi. Peranan obat tradisional dalam pelayanan kesehatan masyarakat perlu ditingkatkan dengan dilakukan upaya pengenalan, penelitian, pengujian dan pengembangan khasiat dan keamanan suatu tumbuhan obat

Salah satu tanaman hayati yang bermanfaat sebagai obat-obatan adalah sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan salah satu jenis dari family piperaceae. Sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, tannin dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa di atas diketahui memiliki sifat antibakteri. Flavonoid berfungsi sebagai anti bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein extra seluler yang mengganggu integritas membrane sel bakteri. Tannin pada daunnya bermanfaat mengurangi sekresi cairan pada vagina. Banyak fungsi lainnya yang dapat ditanggulangi dengan sirih merah.

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) secara umum mengandung minyak atsiri, flavonoid senyawa fenol, propanoid, dan tanin. Senyawa ini bersifat antibakteri yang kuat dan dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri, khususnya *Staphylococcus aureus* (Rifqi *et al.*, 2017).

Uji aktifitas antibakteri dari ekstrak daun sirih dilakukan untuk mengetahui adanya aktifitas antibakteri atau tidak dari perbedaan ketuaan daun. Perbedaan ketuaan daun terhadap aktifitas juga telah dibuktikan dari daun tua kersen memiliki aktivitas penghambatan lebih besar pada bakteri *Escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* dikarenakan kandungan flavonoid lebih tinggi pada daun kersen tua dan dibandingkan daun kersen muda. (pujaningsih dkk., 2018).

Daun muda dari daun sirih merah dipilih berdasarkan ukuran, warna, dan posisi daun muda memiliki warna daun hijau muda, ukuran lebih kecil dibandingkan daun tua, posisinya ada di urutan ke 1-4 dari pucuk daun. Daun tua dari daun sirih hijau memiliki ukuran yang lebih lebar dibandingkan daun tua dan posisinya berada pada urutan ke 5 dan seterusnya.

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang (Balawala, 2012). Salah satu penyebab terjadinya penyakit infeksi ini adalah *Staphylococcus aureus*. Infeksi ini adalah *Staphylococcus aureus* yang belum mencapai keadaan parah kemungkinan hanya menyebabkan infeksi ringan. Infeksi dari *Staphylococcus aureus* dalam kondisi yang lebih berat dapat mengakibatkan meningitis. (Israr, 2018) Mikroorganisme seperti bakteri gram positif dan gram negatif dapat menyebabkan penyakit infeksi pada manusia. Beberapa penyakit infeksi antara lain bakteri *staphylococcus aureus*.

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang berbentuk kokus. *Staphylococcus aureus* bersifat non-motil, non-spora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidasi negative dan ditemukan pada permukaan kulit sebagai flora normal, terutama disekitar hidung, mulut, alat kelamin dan sekitaran anus. Dapat menyebabkan infeksi pada luka biasanya berupa abses berupa nanah atau cairan dalam jaringan yang disebabkan oleh infeksi. Jenis-jenis abses yang spesifik diantaranya bengkak (boil), Radang akar rambut (Folliculitis). Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* bisa menyebabkan sindroma kulit. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menular selama ada nanah yang keluar dari lesi atau hidung. Selain itu jari jemari juga dapat menyebabkan infeksi *Staphylococcus aureus* dari satu bagian tubuh yang luka atau robek (Dowshen, et al, 2015) Salah satu penyakit yang disebabkan oleh *staphylococcus aureus* diantaranya *Atritis septic*.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Affif dan S. Amilah pada tahun 2017 yang meneliti tentang efektivitas daun sirih merah bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka akan semakin besar pula zona hambat yang diberikan dan didapatkan hasil penelitian menunjukkan bahwa daun sirih merah (*Piper crocatum*) efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan hasil pada metode difusi menunjukkan luas zona hambat tertinggi pada konsentrasi 80% dengan diameter 14 mm. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya terdapat pada konsentrasinya dimana pada konsentrasi sebelumnya menggunakan konsentrasi 0%, 40%, 60%, dan 80%. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100.

## **METODE PENELITIAN**

### **2.1. Desain penelitian**

Desain penelitian yang digunakan adalah Eksperimen Laboratory. Eksperimen Laboratory adalah suatu penelitian yang memberikan perlakuan terhadap sampel yang diteliti dilaboratorium (Sugiyono, 2013).

### **2.2. Lokasi penelitian**

#### **a. Lokasi pengambilan sampel**

1. Isolate *Staphylococcus aureus* diambil di lab mikrobiologi Stikes Panrita Husada Bulukumba.
2. Lokasi pengambilan daun sirih merah di Kel. Ekatiro Kec. Bontotiro.

#### **b. Lokasi pengamatan sampel**

DiLaboratorium Mikrobiologi dan Kimia Terapan Stikes Panrita Husada Bulukumba.

### **2.3. Populasi dan sampel penelitian**

#### **1. Populasi**

Populasi adalah keseluruhan subyek penelitian yang akan diteliti (Setiadi, 2013). Populasi dalam penelitian ini adalah Daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang di ambil di kel ekatiro kec. bontotiro

## 2. Sampel

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi. Bila populasi besar keseluruhan objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Setiadi, 2013). Sampel dalam penelitian ini adalah daun sirih merah dengan jumlah sampel 400 gram dan dibuat ekstraksi menggunakan pelarut ethanol. Dalam penelitian ini menggunakan Kontrol berupa Tetracycline dan aquades. Kontrol berfungsi sebagai data pembandingan dengan perlakuan.

## 2.4. Bahan dan alat penelitian

### 1. Alat

Autoclave, oven, pipet tetes, batang pengaduk, sendok tanduk, timbangan analitik, Erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, gelas kimia, gelas ukur, rak tabung reaksi, kompor listrik, kaca arloji, stirrer, jarum ose, pinset, incubator, jangka sorong, Bunsen, labu ekstraksi, blender dan cork borer.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*), Muller Hinton Agar (MHA) (Oxoid), Nutrient Agar (NA), aquades, etanol 100%, biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, tissue, kertas saring, tetra cylin, kristal violet, iodine, alcohol, safranin, handscoon dan aluminium foil.

## 2.5. Koleksi/tahapan penelitian

### a. Pra analitik

#### 1. Sterilisasi alat

- Mencuci dengan bersih semua alat gelas atau kaca yang akan digunakan dibawah air mengalir, lalu keringkan.
- Membungkus menggunakan kertas HVS.
- Memasukkan ke dalam oven pada suhu 171°C selama 2 jam.
- Mengeluarkan alat setelah dingin.

#### 2. Pembuatan Ekstrak Daun sirih merah

Adapun pengekstrakan daun sirih merah adalah sebagai berikut:

##### a). Metode Maserasi

- Dicuci daun sirih merah dibawah air mengalir.
- Dipotong daun sirih merah kecil-kecil, setelah itu dikeringkan atau diangin-anginkan pada suhu ruangan selama beberapa hari. Daun sirih merah yang telah kering dihaluskan menggunakan blender lalu ditimbang sebanyak 400 gram.
- Direndam menggunakan etanol 96% 1000 ml selama 3 hari lalu dimasukkan ke dalam wadah.

4. Disaring kedalam Erlenmeyer menggunakan kertas saring.
- b). Menguapkan menggunakan destilasi hingga di peroleh Ekstrak kental.
  - 1). Dipasang rangkaian alat destilasi.
  - 2). Dimasukkan 1000 ml ekstrak daun sirih merah kedalam labu destilasi.
  - 3). Dialirkan air pendingin melalui kondensor.
  - 4). Dipanaskan labu destilasi pada temperatur suhu  $\pm 800C$
  - 5). Ditampung destilasi yang keluar dalam Erlenmeyer, dilakukan destilasi hingga etanol dalam ekstrak berhenti menetes.
  - 6). Diukur volume destilat dan ditentukan presentase rendaman dan ekstrak daun sirih merah.
3. Pembuatan tingkat konsentrasi Ekstrak Daun sirih merah.

Penelitian ini dibuat 5 tingkat konsentrasi yaitu 100%, 80%, 60%, dan 40%, 20% dengan rumus pengenceran (Purwiyanto, 2013) yaitu :

Rumus Pengenceran

$$K1.V1=K2.V2$$

Ket:

K1 : Konsentrasi Awal

V1 : Konsentrasi awal yang dicari

K2 : Konsentrasi yang diinginkan

V2 : Volume yang diinginkan

Berdasarkan rumus pengenceran tersebut, maka cara pembuatan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Ekstrak daun Sirih merah (Piper Crocatum) yaitu sebagai berikut:

- a) Mengisi tabung pertama 1 ml ekstrak daun sirih merah tidak ditambah aquades, konsentrasi 100%
- b) Mengisi tabung kedua 0,8 ml ekstrak daun sirih merah yang di tambah 0,2 ml aquadest, konsentrasi 80 %
- c) Mengisi tabung ketiga 0,6% ml ekstrak daun sirih merah ditambah 0,4 ml aquadest, konsentrasi 60%.
- d) Mengisi tabung keempat 0,4 ml ekstrak daun sirih merah ditambah 0,6 ml aquadest, konsentrasi 40%.
- e) Mengisi tabung kelima 0,2 ml ekstrak daun sirih merah ditambah 0,8 ml, konsentrasi 20%.

#### 4. Pembuatan Media

- a) Nutrient agar (NA)

Nutrient agar (NA) adalah salah satu contoh media yang sering digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan bakteri.

- (1) Ditimbang 0,56 gram serbuk media Nutrient agar (NA).
- (2) Dipindahkan serbuk Nutrient Agar (NA) dalam gelas kimia.
- (3) Dilarutkan dalam 20 ml aquadest (20 gram/1000 ml) dan dihomogenkan dengan bantuan pemanasan di hot plate.
- (4) Dihomogenkan, kemudian di sterilkan menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.

b) Media Mueller Hinton (MHA)

- (1) MHA dilarutkan sebanyak 7,6 gram kedalam 200 ml aquades.
- (2) dipanaskan hingga mendidih menggunakan hot plate.
- (3) Diaduk hingga homogen lalu ditutup mulut Erlenmeyer dengan aluminium foil dan di sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

5. Peremajaan Bakteri

- a) Diambil satu jarum ose biakan isolate.
- b) Kemudian digoreskan di permukaan media agar dengan permukaan miring.
- c) Lalu diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C.

6. Penyiapan bakteri uji

- a) Mengambil satu jarum ose biakan isolate.
- b) Kemudian digoreskan dalam biakan Nutrient Agar (NA) pada tabung yaitu dengan mendekatkan tabung reaksi pada nyala api saat menggoreskan permukaan miring menggunakan ose.
- c) Kemudian tabung reaksi ditutup kembali dan dinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

7. Pewarnaan Gram

- a) Dibuat preparat secara melingkar dengan diameter 2-3 cm.
- b) Fiksasi di atas api Bunsen sebanyak 2-3 kali.
- c) Preparat digenangi dengan Kristal Violet selama 1 menit buang, lalu dibilas dengan air mengalir.
- d) Selanjutnya preparat digenangi dengan iodine selama 1 menit buang, bilas dengan air mengalir. Kemudian digenangi dengan Alkohol selama 20-30 detik
- e) Preparat dibilas dengan air mengalir. Lalu digenangi dengan safranin selama 1-2 menit, lalu dibilas lagi dengan air.
- f) Kemudian keringkan dan periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x.

8. Pembuatan Larutan Standar Mc Farland

- a) Dibuat larutan standar Mc Farland dengan cara di campurkan 9,5 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% dengan 0,5 ml larutan BaCl<sub>2</sub> 1% sehingga volume menjadi 10 ml
- b) Dikocok sampai homogenkan untuk membandingkan suspense bakteri.

#### 9. Pembuatan suspense bakteri uji

- a) Diambil 1 ose bakteri *Stapylococcus aureus*
- b) Dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCL fisiologi 0,9%
- c) Dihomogenkan, hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standard Mc Farland.

#### 10. Pembuatan kontrol Positif

- a) Dihaluskan tetracycline 500 mg menggunakan lumping alu.
- b) Ditimbang sebanyak 100 mg menggunakan timbangan analitik.
- c) Dilarutkan dengan aquadest sebanyak 20 ml didalam Erlenmeyer.

#### 11. Pembuatan kontrol Negatif

Aquadest sebagai kontrol negatif tanpa tambahan apapun.

#### b. Analitik

##### Pengujian Aktivitas Antibakteri

- a. Dituang media Mueller Hinton Agar (MHA) sebanyak 20 ml kemudian ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 20 µl kedalam cawan petri lalu di tunggu hingga media memadat.
  - b. Dilakukan uji daya hambat setelah media memadat yaitu dengan cara membuat lubang dimedia MHA yang telah diinokulasikan bakteri.
  - c. Dimasukkan konsentrasi ekstrak daun sirih merah menggunakan mikropipet kedalam setiap sumuran di media MHA.
  - d. Diinkubasi kedalam incubator pada suhu 37°C selama 24 jam.
- Diamati dan ukur diameter zona terang (clear zone) yang terbentuk di sekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong.

#### c. Pasca analitik

##### Interpretasi hasil :

- 1) Hasil positif (+): ditandai dengan terdapatnya zona bening disekitar sumuran.
- 2) Hasil Negatif (-): ditandai dengan tidak terdapatnya diameter zona bening disekitar sumuran yang mengandung ekstrak daun sirih merah
- 3) Pengukuran zona bening ditentukan dengan rumus

#### 2.6. Analisis data

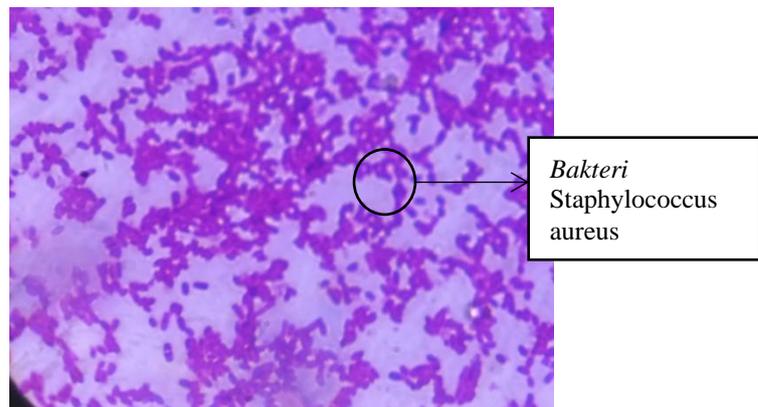
Data yang telah diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium dianalisis secara deskriptif. Masalah deskriptif kategorik dianalisis secara deskriptif untuk variable kategorik. Hasilnya adalah berupa frekuensi dan persentase (proporsi) yang dapat disajikan dalam bentuk table atau grafik.

## HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi DIII Analisis Kesehatan Stikes Panrita Husada Bulukumba yang dilakukan pada bulan september 2023 dengan tujuan mengetahui Uji daya hambat ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Adapun hasil yang didapatkan sebagai berikut.

### 1. Pewarnaan Gram

Setelah dilakukan pewarnaan gram yang diamati menggunakan mikroskop cahaya, didapatkan hasil sebagai berikut:



**Gambar 4.1.** Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* pembesaran 100x  
(Dokumentasi pribadi ,2023)

Berdasarkan gambar diatas, terlihat jelas bahwa setelah dilakukan pewarnaan gram bakteri didapatkan hasil berwarna ungu dan memiliki bentuk kokus tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur seperti anggur. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk kedalam ciri-ciri bakteri gram positif (Bakteri yang mempertahankan warna Kristal violetnya sewaktu pewarnaan gram).

### 1. Uji Aktivitas Antibakteri

Setelah dilakukan pewarnaan gram dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri. Pada penelitian ini uji daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan pada lima konsentrasi ekstrak daun sirih merah, yaitu: 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%, tetracylin sebagai kontrol positif dan kontrol negatif dengan menggunakan aquades dengan menggunakan metode sumuran. Diketahui hasil uji aktivitas antibakteri yang positif ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar sumuran pada masing-masing kelompok perlakuan konsentrasi. Sementara yang negatif tidak memiliki zona bening pada sekitar sumuran pada kelompok perlakuan konsentrasi.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri menggunakan ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, yang dilihat berdasarkan zona bening yang terbentuk disekitar sumuran pada masing-masing perlakuan konsentrasi. Berikut adalah tabel nilai rata-rata zona hambat tiap perlakuan.

**Tabel 4.1** Nilai Rerata Zona Hambat Ekstrak Daun sirih merah Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Waktu Inkubasi 24 Jam.

Konsentrasi	Luas Zona Hambat (mm)			Rerata (mm)	Respon Hambat
	I	II	III		
20%	7,5	8	7,5	7,66	Tidak ada
40%	9,5	10,0	10,5	10,0	Lemah
60%	12	12,5	12	12,1	Lemah
80%	16	16	17,5	16,5	Sedang
100%	18	17,5	17,5	17,6	Sedang
Kontrol (+)	20,5	22	20,5	21,0	Kuat
Kontrol (-)	0	0	0	0	Tidak ada

Sumber data primer,2023

Berdasarkan Tabel 4.1 Di atas dapat dilihat bahwa masing-masing kelompok perlakuan pengulangan konsentrasi ekstrak daun sirih merah dapat membentuk zona hambat, yaitu konsentrasi 100% dengan rerata ukuran zona hambat yang terbentuk sebesar 17,6 mm dengan respon hambat Sedang, konsentrasi 80% sebesar 16,5 mm dengan respon hambat Sedang, konsentrasi 60% sebesar 12,1 mm dengan respon hambat Lemah, konsentrasi 40% sebesar 10,0 mm dengan respon hambat Lemah, dan konsentrasi 20% sebesar 7,66 mm dengan respon hambat Tidak ada.

Pada tabel diatas ditunjukkan pengulangan 3 kali dengan tujuan untuk meningkatkan ketelitian karena jika jumlah ulangan semakin banyak atau bertambah maka akan semakin meningkatkan ketelitian, agar tidak salah dalam pengambilan keputusan karena pengulangan dapat menambah cakupan penarikan kesimpulan, dapat mengendalikan ragam galat. Pengulangan juga memungkinkan untuk mengelompokkan satuan-satuan percobaan menurut respon yang diharapkan untuk memaksimum keragaman antar kelompok dan meminimum keragaman dalam kelompok, sehingga mempelajari perbedaan perlakuan dapat lebih teliti.

**Tabel 4.2** Uji Analisis Post-hoc tamhane

Uji One Way Anova	Sig
Kelompok Perlakuan Uji daya hambat Daun Sirih Merah	0,00*

Pada tabel 4.2 langkah pertama dalam menentukan normal atau tidaknya suatu kumpulan data adalah dengan melakukan uji normalitas, yaitu mencoba untuk mengetahui apakah sebaran data pada suatu variabel atau kelompok data berdistribusi normal atau tidak. Jika tidak ada perbedaan yang terlihat, data dikatakan terdistribusi secara teratur. Hasil uji varians yang menunjukkan nilai ( $p > 0,05$ ), menunjukkan data normal. Setelah uji keteraturan, dilakukan pengujian dengan menggunakan uji One Way Anova.

Hasil One Way Anova terhadap kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah memiliki nilai ( $p < 0,05$ ), maka nilai rerata antar kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah adalah signifikan atau berbeda bermakna. Untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan signifikan tersebut, maka selanjutnya dilakukan uji post-hoc tests tamhane. Uji post-hoc test tamhane adalah uji yang menghasilkan angka lebih dari 1, rerata yang dibandingkan menunjukkan ada perbedaan atau kebalikannya dari variasi dalam kelompok (within) dan variasi antara kelompok (between) yang dimana apabila variasi kelompok dan antar kelompok memiliki variasi yang sama dengan angka 1 maka rerata yang dibandingkan menunjukkan tidak ada perbedaan.

**Tabel 4.3** Uji Analisis Post-hoc tamhane

	A 20%	B 40%	C 60%	D 80%	E 100%	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
20%	—	0,070	0,001	0,021	0,000	0,008	0,000*
40%	0,070	—	0,087	0,017	0,002	0,003	0,000*
60%	0,001	0,087	—	0,111	0,000	0,021	0,000*
80%	0,021	0,017	0,111	—	0,111	0,046	0,000*
100%	0,000	0,002	0,000	0,885	—	0,196	0,000*
Kontrol Positif	0,008	0,003	0,021	0,046	0,196	—	0,000*
Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	—

\*= menyatakan terdapat perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

Sumber: Data Primer 2023

Pada tabel 4.3 merupakan hasil uji post-hoc yang menunjukkan jika data memiliki nilai ( $p < 0,05$ ) berarti data tersebut signifikan atau berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Jika

( $p > 0,05$ ), maka data tersebut tidak signifikan atau tidak berbeda bermakna dengan konsentrasi lain.

Uji post-hoc menunjukkan diameter zona hambat ekstrak daun sirih merah untuk konsentrasi 20%,40%,60%,80% dan 100% tidak signifikan atau tidak berbeda makna dengan konsentrasi lainnya, semua konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Kontrol negatif tidak terdapat signifikan dari konsentrasi 20%,40%,60%,80%,100% karena kontrol negatif adalah kelompok perlakuan yang tidak dapat menghasilkan efek atau memberikan efek perubahan pada variable terikat (Bakteri *Staphylococcus aureus*).

Setelah mengetahui daerah zona hambatan, setiap kelompok perlakuan juga diatur berdasarkan jarak tipikal melintasi zona hambatan (mm). Untuk mengetahui klasifikasi respon zona hambat pertumbuhan maka dapat digunakan tabel respon hambatan pertumbuhan bakteri menurut (Hasan,2021).

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium mikrobiologi dan kimia terapan STIKes Panrita Husada Bulukumba mengenai “ Uji daya hambat ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* “ yang dilakukan pada 5 konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20% yang diinkubasi selama 24 jam. Hasil pengamatan dibandingkan dengan Kontrol positif yaitu Tetracyclin 500 mg dan kontrol negatif yaitu aquadest steril.

Penelitian ini diawali dengan proses pembuatan ekstrak daun sirih merah sebanyak 400 gr yang telah dikeringkan pada suhu ruang kemudian dihaluskan dan diekstraksi menggunakan metode maserasi. Setelah proses pembuatan ekstrak dilakukan pembuatan tingkat konsentrasi dari daun sirih merah dengan menggunakan aquadest steril. Tujuan dari pembuatan konsentrasi ini untuk melihat konsentrasi manakah yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Tingkat konsentrasi tersebut akan diuji kemampuan penghambatannya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perhitungan zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang terlihat bening dibandingkan dengan daerah sekitarnya.

Mekanisme pewarnaan gram yaitu zat warna primer dimana kristal violet berfungsi untuk memberikan warna pada seluruh bagian sel bakteri. Lugol yang berperan membentuk kompleks yang tidak larut dengan mengikat zat warna primer. Hasilnya ialah kompleks kristal violet – lugol yang berfungsi mengintensifkan warna zat primer sehingga seluruh sel akan tampak ungu – gelap. Pada sel bakteri gram positif, kompleks kristal violet – lugol akan terikat pada asam ribonukleat-magnesium yang

merupakan komponen dinding sel dan membentuk kompleks asam ribonukleat-magesium - kristal violet yang sifatnya sangat sulit dipisahkan atau dihilangkan warnanya.

Zat decolouring (Alkohol 96%) berperan sebagai pelarut lipid dan sebagai zat dehidrasi protein. Perannya bergantung pada konsentrasi lipid dan dinding sel mikroorganisme. Pada sel gram positif, konsentrasi lipid yang rendah menjadi penentu retensi kompleks asam ribonukleat-magnesium-kristal violet. Dengan demikian kandungan lipid yang sedikit tersebut dengan mudah larut dalam alkohol dan menyebabkan pembentukan pori-pori dinding sel yang kecil. Pori-pori kemudian ditutup oleh alkohol yang mempunyai daya dehidrasi. Akibatnya zat warna primer yang terikat kuat menjadi sulit dihilangkan dan sel tetap berwarna biru-ungu. .

Zona bening yang terbentuk pada penelitian ini memiliki diameter berbeda-beda tiap kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan konsentrasi pada konsentrasi 100% dengan rerata 17,6 mm, pada konsnetrasi 80% dengan rerata 16,5 mm, pada konsentrasi 60% dengan rerata 12,1 mm. pada konsentrasi 40% dengan rerata 10,0 mm, dan pada konsentrasi 20% dengan rerata 7,66 mm.

Penjelasan diatas juga sesuai dengan pernyataan (Jumardin, 2015) bahwa semakin tinggi konsentrasi dari suatu sampel yang digunakan maka semakin besar pula diameter zona hambat pertumbuhan bakteri.

Sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Afif dan S. Amilah, 2017) Menyatakan bahwa uji daya hambat ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri didapatkan hasil 70%-100% menunjukkan kategori lemah pada konsentrasi 80% untuk menghambat bakteri staphylococcus aureus

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada variasi konsentrasi 80% dan 100% menunjukkan hasil bahwa ekstrak daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri Stapylococcus aureus pada respon hambat Sedang sedangkan 40% dan 60% menunjukkan hasil bahwa ekstrak daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri Stapylococcus aureus pada respon hambat Lemah dan pada konsentrasi 20% menunjukkan hasil bahwa ekstrak daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri Stapylococcus aureus pada respon hambat Tidak ada .

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antibakteri (Pakpahan et al., 2015). Sirih merah (*Piper crocatum*) . Merupakan salah satu anggota family piperaceae yang telah banyak dimanfaatkan untuk kesehatan pada bagian daunnya. Sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki senyawa yang terkandung pada ekstrak meliputi flavonoid, tannin, saponin dan minyak atsiri yang dapat memberikan efek farmakologis (Rinanda et al., 2012). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menurut (Nisa, 2019), yaitu kekeruhan suspensi bakteri.

Suspensi kurang keruh maka diameter zona hambat akan lebih besar dan sebaliknya jika

suspensi lebih keruh diameter zona hambat akan semakin kecil. Temperatur inkubasi juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Untuk memperoleh pertumbuhan yang optimal, inkubasi dilakukan pada suhu 35°C. Suhu yang kurang dari 35°C dapat menyebabkan diameter zona hambat lebih besar.

Hal ini bisa terjadi pada plate yang ditumpuk-tumpuk lebih dari 2 plate pada saat inkubasinya. Plate yang ditengah suhunya kurang dari 35°C. Inkubasi pada suhu lebih dari 35°C, dapat menyebabkan difusi ekstrak yang kurang baik. Pada penelitian ini suhu yang digunakan selama inkubasi adalah 37°C.

Zona hambat yang terbentuk dapat diklasifikasikan seberapa besar respon hambatnya dengan mencocokkan pada tabel klasifikasi respon zona hambat menurut(Hasan,2021).

Pada penelitian ini respon yang didapatkan yaitu respon Sedang terdapat pada konsentrasi 100% pada ekstrak daun Sirih merah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, karena memiliki rerata diameter zona hambat 17.6 mm.Tetracylin yang digunakan sebagai pembanding memiliki rerata diameter zona hambat 21,0 mm sehingga diklasifikasikan dengan respon Kuat.

Hasil One Way Anova terhadap kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah memiliki nilai ( $p < 0,05$ ), maka nilai rerata antar kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah adalah signifikan atau berbeda bermakna. Untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan signifikan tersebut, maka selanjutnya dilakukan uji post-hoc tests tamhane. Uji post-hoc test tamhane adalah uji yang menghasilkan angka lebih dari 1, rerata yang dibandingkan menunjukkan ada perbedaan atau kebalikkan dari variasi dalam kelompok (within) dan variasi antara kelompok (between) yang dimana apabila variasi kelompok dan antar kelompok memiliki variasi yang sama dengan angka 1 maka rerata yang dibandingkan menunjukkan tidak ada perbedaan.

Hasil uji post-hoc yang menunjukkan jika data memiliki nilai ( $p < 0,05$ ) berarti data tersebut signifikan atau berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Jika ( $p > 0,05$ ), maka data tersebut tidak signifikan atau tidak berbeda bermakna dengan konsentrasi lain.

Uji post-hoc menunjukkan diameter zona hambat ekstrak daun sirih merah untuk konsentrasi 20%,40%,60%,80% dan 100% tidak signifikan atau tidak berbeda makna dengan konsentrasi lainnya, semua konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Penelitian ini sesuai dengan yang dilakukan (Hidayah et al., 2016). Yang menyatakan *Staphylococcus* cepat menjadi resisten terhadap beberapa antibiotik. Pemilihan tetracylin sebagai kontrol positif karena tetracylin merupakan golongan obat Tetracycline yang bekerja untuk mencegah pengikatan RNA transfer aminoasil dan menghambat sintesis protein sehingga menghambat pertumbuhan sel bakteri. Sedangkan pada penelitian (Santoso,2015). Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil resistensi antibiotika ciprofloxacin, gentamicin, dan tetracycline pada specimen darah.

Aquades sebagai kontrol negatif yang menunjukkan tidak adanya zona hambat bakteri. Pelarut

aquades merupakan senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri . Hal ini membedakan bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer tidak berpengaruh terhadap hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak. Aquades merupakan larutan yang mempunyai senyawa organik netral yang mempunyai gugus fungsional polar seperti gula ,alcohol, aldehida,dan keton cepat larut (Khotimah,2018).

Berdasarkan hal tersebut peneliti dapat mengasumsikan bahwa Uji daya hambat daun sirih merah (*Piper crocatum*) mampu menghambat pertumbuhan *Stapylococcus aureus* walaupun zona hambat yang didapatkan sedang. Jika beriringan dengan konsentrasi yang digunakan semakin tinggi maka semakin tinggi pula zona hambat yang terbentuk. Uji daya hambat daun sirih merah tersebut bisa digunakan dalam hal menghambat bakteri penyebab infeksi yaitu bakteri *Stapylococcus aureus*.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang daya hambat ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Luas zona hambat pada uji daya hambat ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media uji dengan variasi konsentrasi 20%,40%,60%,80%, dan 100% dan terbentuknya zona hambat secara berturut-turut adalah 7,66 mm, 10.0 mm, 12,1 mm, 16,5 mm dan 17,6 mm.
2. Ekstrak daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

## REFERENSI

- Ambarawati, & Dyah, I. G. A. (2017). Deteksi Gen GTF-B *Streptococcus Mutans* dalam Plak Dengan Gigi Karies Pada Siswa SD N 29 Daging Puri. *Journal Kedokteran Gigi Universitas Udayana*, 11(3), 1–90.
- Anas, R., Kurniawan, K., & Puspitasari, Y. (2018). Perbedaan Daya Hambat AntibakteriI Antara Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 10(1), 120–125. <https://doi.org/10.33096/jifa.v10i1.396>
- Arief, H. &. (2007). *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya Seri 3*.
- F.E. Afiff dan S. Amilah (2017). Efektivitas Daun Mengkudu (*Morindo citrifolia L.*) Dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Zona Hambat Pertumbuhan *Stapylococcus aureus*. *Jurnal Biologi FMIPA UNIPA Surabaya* ISSN 1412-1840

- Dan, P. E. G., & Terhadap, H. (2015). Perbandingan Efektivita Formulasi..., Iffah Kamaliyah, Fakultas Farmasi UMP, 2015.
- Dewi, R. (2019). Mikrobiologi farmasi. Pustaka baru press.
- Diyantika, D., & Mufida, D.C. (2017). The Morphological Changes of Staphylococcus Aureus Caused by Ethanol extracts of Cocoa. 3(1), 25–33.
- Hanani, E. (2015). Analisis Fitokimia. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hasanudin, A. R. P. & S. S. (2020). Uji Bioaktivitas Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Penyakit Karier Gigi. 5(2), 241–250.
- Iffah. (2015). Uji Efektivitas Formulasi Pasta Gigi Ekstrak daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap *Streptococcus Mutans*.
- Manalu, R. T., Bahri, S., Melisa, M., & Sarah, S. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat asal Feses Manusia sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *SainstechFarma*, 13(1), 55–59.  
<https://ejournal.istn.ac.id/index.php/sainstechfarma/article/view/525>
- Nisa. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Majority*, 8(2), 136–143.
- Nova. (2018). Uji Antimikroba Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 5(2), 43–49. <https://doi.org/10.22435/sel.v5i2.1489>
- Nurhidayanti, N., & Sari, R. R. (2022). Perbedaan Karakteristik Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Domba dan Media Agar Darah Manusia. *Jurnal Analis Kesehatan*, 11(1), 30. <https://doi.org/10.26630/jak.v11i1.3202>
- Owu, N. M., & Jayanti, M. (2020). Uji Efektivitas Penghambatan dari Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Biomedik*, 12(3), 145–152
- Pelezar, M. J., dan E. S. Chan, 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi ke-2*. 80 Jakarta : Universitas Indonesia.
- Rifqi, F., Ismail, A., & Susilaningsih, N. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Dosis Bertingkat Terhadap Produksi Nitrit Oksida (No) Makrofag : Studi Pada Mencit Balb/C Yang Diinfeksi *Salmonella thypimurium*. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 6(2), 521–529.



- Resky Dwijayanti.,Islawati & Asdinar (2021). Uji Daya Hambat *Handsanitizer* Dari Daun Sirih (*Piper Betle*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Stapylococcus Aureus*. Jurnal TLM Blood Smear 2(1),20. <http://ojs.stikespanritahusada.ac.id/index.php/JMLT/index>.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82–89.
- Sugiyono. (2013). Metode penelitian kuantitatif, kualitatif dan R&D. ALVABETA, cv.
- Sumijan, S. (2021). Sistem Pakar Menggunakan Metode Case Based Reasoning dalam Akurasi Penyakit Disebabkan oleh Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Sistim Informasi Dan Teknologi*, 3, 13–19. <https://doi.org/10.37034/jsisfotek.v3i1.38>
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08>