

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR REBUSAN DAUN SIRIH (Piper betle Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Streptococcus pyogenes DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM

by Ananda Sandi Devi Anggraini

Submission date: 18-Oct-2021 01:48PM (UTC+0700)

Submission ID: 1676912471

File name: ANANDA_Turnitin-2.docx (1.09M)

Word count: 5054

Character count: 31194

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rasa tidak nyaman pada tenggorokan sering dijumpai biasanya sering disebut faringitis, yang merupakan radang tenggorokan yang bersifat mendadak dan cepat memberat (Sidharti et al., 2015). Bakteri *Streptococcus pyogenes*, sering dikenal sebagai *Streptococcus* beta hemolyticus grup A, menyebabkan faringitis, atau sakit tenggorokan. Bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah spesies dari *streptococcus* yang paling patogen pada manusia karena memiliki protein eksotoksin, superantigen, protein dinding sel yang berbeda, dan tingkat patogenitas lainnya, bakteri ini menghasilkan bermacam-macam masalah penyakit mulai dari penyakit ringan hingga tingkat keparahannya. Kematian akibat infeksi *Streptococcus pyogenes* terjadi cukup tinggi, yaitu lebih dari 25% dan diperkirakan setidaknya terjadi sebanyak 650.000 kasus setiap tahunnya (E. P. Sari, 2020).

Kasus faringitis di seluruh dunia yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus pyogenes* mencapai angka 616 juta kasus setiap tahun (Marhamah & Putri, 2018). Terjadinya masalah radang tenggorokan berat pada tahun 2007, termasuk sepuluh besar masalah penyakit yang rawat jalan di Indonesia, terhitung 1,5 % dari populasi ataupun 214.781 orang setiap tahun. Berdasarkan data dari National Ambulatory Medical Care Survey (NAMCS), peradangan saluran pernapasan atas, seperti radang tenggorokan berat,

mengakibatkan banyak pengunjung untuk pengobatan setiap tahunnya di Amerika Serikat” (Napitupulu et al., 2016).

Jika terlalu banyak mengonsumsi antibiotik membuat bakteri kebal terhadap antibiotik, jadi jika infeksi berulang, antibiotik yang sama tidak bisa digunakan untuk mengobatinya. Obat herbal jg termasuk obat alami yang aman dikonsumsi dan mempunyai efek samping lebih sedikit dari pada obat modern jika penggunaan secara tepat (E. P. Sari, 2020). Selain itu, senyawa herbal alami merupakan alternatif yang layak karena mudah diperoleh, harga terjangkau, dan efek samping lebih sedikit dari pada obat modern (Novita, 2016). Untuk mencegah infeksi mikroba, banyak orang beralih ke bahan alami. Daun sirih juga merupakan pemanfaatan dari bahan alami yg diperoleh langsung dari alam (Amanda et al., 2019).

Terdapat banyak kandungan yg terdapat pada daun sirih salah satu diantaranya yaitu enzim diastase, gula, tanin, dan minyak atsiri. kandungan daun sirih muda memiliki beberapa kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun sirih lebih matang. Kandungan tanin pada dasarnya tidak berubah sepanjang waktu” (Willianti et al., 2020). Komponen antibakteri dan antibiotik daun sirih (*Piper betle Linn*) dibuat sebagai obat penyakit tenggorokan dan penyakit akibat bakteri. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sugianti bahwa adanya efek dari air rebusan daun sirih pada bakteri *Streptococcus sp.*

Diameter zona hambat dalam konsentrasi 20% pada pengukuran 0 mm, 6,67 mm dalam konsentrasi 40%, 7,33 mm dalam konsentrasi 60%, 8 mm dalam konsentrasi 80%, dan 7,67 mm dalam konsentrasi 100%, sesuai dengan

temuan penelitian ini. (Amanda et al., 2019). Mengingat tingginya prevalensi pada kasus faringitis dan keaneka ragaman senyawa hayati yang melimpah serta adanya antimikroba pada daun sirih (*Piper betle Linn*) maka peneliti ingin meneliti Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *Streptococcus* konsentrasi mulai 25% sampai dengan 100% memakai cara difusi cakram disk.

1.2 Rumusan Masalah

Pada latar belakang didapat kan rumusan masalah "Bagaimana aktivitas antibakteri air rebusan daun sirih (*Piper batle Linn*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* ?"

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri air rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.3.2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi air rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.4 Manfaat Penelitian

12

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini akan menambah pemahaman kita terkait "efektivitas rebusan daun sirih (*Piper betle* Linn) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*".

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat mensupport masyarakat umum "memanfaatkan rebusan daun sirih (*Piper betle* Linn) sebagai pengobatan sakit tenggorokan yang dipengaruhi oleh bakteri *Streptococcus pyogenes*".



TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Sirih

Tumbuhan ini termasuk dalam famili *Peperaceae*, Sirih (*Piper betle Linn*) tumbuh merambat dan dapat mencapai ketinggian 5-15 m tergantung tumbuh dan letaknya. Akar, biji, dan daun tanaman sirih (*Piper betle Linn*) semuanya dapat digunakan untuk terapi, meskipun yang paling umum adalah daunnya (Carolia & Noventi, 2016).



Gambar 2.1. Daun sirih

2.1.1 Morfologi Daun Sirih (*Piper betle Linn*)

Daun sirih berbentuk hati memiliki ujung yang lancip, tumbuh berselang seling, tekstur kasar saat disentuh, dan berbau (aromatik) dengan panjang 6–17,5 cm dan lebar 3,5-10 cm (Carolia & Noventi, 2016). Klafikasi pada daun sirih yaitu berwarna hijau, permukaan atas rata, halus, sedikit berkilau dan tulang daun yang sedikit tertutup, latar bawah sedikit kasar, tangkai daun menonjol. Batang pohon bulat, lentur, dan berwarna hijau kecoklatan, dengan latar kulit kasar sedikit kusut (Sari *et al.*, 2019).

2.1.2 Klafisikasi Daun Sirih (*Piper betle* Linn)

Berikut ini merupakan pengolongan tumbuhan daun sirih (*Piper betle* Linn): (Pradhan *et al.*, 2013)

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnolipsida
Order	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: betle
Binomial name	: Piper betle Linn

Tanaman sirih hijau (*Pipper batle Linn*) ditemukan di hampir setiap wilayah diantaranya yaitu Indonesia, Malaysia, Thailand, Sri Lanka, India, dan Madagaskar, dan tumbuh subur dari Asia tropis hingga Afrika Timur. Tumbuhan ini biasa dijumpai dipulau Jawa, Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Papua di Indonesia (Carolia & Noventi, 2016).

2.1.3 Kandungan dan Mekanisme Daun Sirih (*Piper betle* Linn)

Air, Protein, Karbohidrat, Mineral, Lemak, Serat, Minyak atsiri, Tannin, Alkaloid, Vitamin C, asam nikotinat, Vitamin A, Tiamin, Riboflavin merupakan kandungan pada daun sirih. Selain itu, unsur seperti kalsium, zat besi, yodium, fosfor, dan kalium terdapat dalam daun sirih serta zat kimia (Pradhan *et al.*, 2013). Saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri membentuk senyawa

kimiawi tanaman sirih. Senyawa saponin memiliki sifat antibakteri. Membran sitoplasma menjadi rusak dan sel akan mati. Senyawa kimia flavonoid berproses dengan mengeksplorasi protein sel bakteri dan menghancurkan membran sel secara permanen (Carolia & Noventi, 2016). Minyak atsiri juga mengandung sifat antibakteri dan dapat digunakan untuk mengobati sakit tenggorokan (faringitis). Kandungan fenol dan kavikol daun sirih dapat digunakan untuk menyembuhkan sakit tenggorokan (faringitis) (Effa & Puetri, 2018).

2.1.4 Mekanisme Antibakteri Daun Sirih (*Piper betle* Linn)

Minyak atsiri bekerja sebagai antibakteri dalam pembentukan membran atau dinding sell. Gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil merupakan kandungan dalam minyak atsiri. Fenol dan turunannya merupakan mayoritas bahan. Denaturasi protein terjadi ketika senyawa kimia fenol berproses dengan dinding sel bakteri. Sedangkan Protein yang terdenaturasi atau terkoagulasi kehilangan aktivitas fisiologisnya dan tidak berguna. Perubahan system protein dinding sel bakteri dapat menambah permieabilitas sell, yang menghambat perkembangan sel dan merusaknya. Bahkan, minyak atsiri mengandung senyawa yaitu senyawa turunan yang lebih kuat dari fenol dalam membunuh bakteri. Biasa diebut dengan senyawa kovikol (W *et al.*, 2009).

Peran dari berbagai senyawa sebagai anti bakteri. Fenol sebagai racun protoplasma, menghancurkan dan menerobos dinding sel dan menghancurkan protein (Carolia & Noventi, 2016). Flavonoid berperan dalam menghambat

pertumbuhan bakteri dan mengganggu permeabilitas dinding sel. Sedangkan saponin sendiri memiliki efek antibakteri dengan mengganggu kestabilan membran sel bakteri, yang berujung pada lisisnya sel bakteri (Tenda *et al.*, 2017).

2.1.5 Manfaat Daun Sirih

Daun sirih (*Piper betle* Linn) mempunyai berbagai kegunaan, termasuk mengobati infeksi paru-paru. Aplikasi daun sirih, efisien dalam mengatasi sakit tenggorokan. Minyak atsiri dalam daun memiliki sifat antibakteri. Minyak atsiri pada sirih dapat menghambat perluasan bakteri yang menyebabkan tifus, kolera, tuberculosis dan lain-lain, dan membantu dalam evaluasi dan eksploitasi yang tepat (Dwivedi & Tripathi, 2014).

2.2 *Streptococcus pyogenes*

Demam reumatik dan glomerulonefritis disebabkan oleh bakteri *Streptococcus pyogenes*, yaitu bakteri gram aktual yang mempengaruhi infeksi invasif dan non invasif, supuratif dan non-supuratif.



Gambar 2. 1 Pewarnaan gram *Streptococcus pyogenes* perbesaran 100 μ m

Sumber : (Pribadi *et al.*, 2020)

2.2.1 Morfologi

Streptococcus pyogenes adalah bakteri Gram-positif dengan sifat anaerob kualitatif yang datang dalam bentuk kokus berbentuk seperti rantai, mulai dari ukuran 0,5 hingga 11 μm . *Streptococcus pyogenes* bisa berkembang dengan baik dengan pH 7.4-7.6 dan suhu optimum 37°C, namun perkembangannya menurun drastis pada suhu 40°C (Nihayatul, 2017).

2.2.2 Virulensi *Streptococcus pyogenes*

Bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan berbagai macam matriks ekstraseluler yang mengikat fibronektin (Fn), kolagen, protein, dan matriks. Fibronektin (Fn) merupakan faktor virulensi bakteri *Streptococcus pyogenes* yang memiliki pengaruh yang cukup besar terhadap perlekatan bakteri pada sel tubuh manusia. Adapun protein dalam bakteri *Streptococcus pyogenes* yang menempel pada tubuh. (Pratama et al., 2019).

2.2.3 Klasifikasi *Streptococcus pyogenes*

Bakteri *Streptococcus pyogenes* dijelaskan yaitu :

- 4 Kingdom : Bacteria
- Filum : Firmicutes
- Ordo : Lactobacillales
- Famili : Streptococcaceae
- Genus : Streptococcus
- Spesies : Streptococcus

2.2.4 Patogenesis *Streptococcus pyogenes*

Potensi patogen *Streptococcus* sangat bervariasi. Meskipun berbagai rangkaian produk sel dan ekstraseluler telah diidentifikasi, tidak adanya patogenesis yang sudah ditetapkan. *Streptococcus pyogenes* merupakan bagian alami dari rongga hidung manusia, pertukaran dari lingkungan mikroba rongga hidung dan pertahanan non spesifik dalam tubuh menjaga jumlahnya tetap terkendali, tetapi kegagalan mekanisme ini dapat menyebabkan penyakit. *Streptococcus pyogenes* (grup A *streptococcus*) adalah penyebab utama faringitis bakterialis tanpa komplikasi dan tonsilitis (Patterson, 2014). Bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah spesies dari *streptococcus* yang paling patogen pada manusia. Karena terdapat kandungan protein seperti protein eksotoksin, dan superantigen, serta beberapa faktor virulensi lainnya, bakteri ini dapat mempengaruhi bermacam-macam gangguan diagnosis (Sari, 2020).

2.3 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang mencegah bakteri berkembang biak. Aspek utama yaitu konsentrasi pada bahan, nilai pH, suhu, jenis uji, komposisi medium dan kapasitas pereduksi zat antibakteri semuanya mempengaruhi efek zat antibakteri. Penghancuran dinding sell, perkembangan permeabilitas sell, perlambatan proses enzim, dan memperlambat produksi asam nukleat protein yang merupakan contoh cara kerja antibakteri (Maharani *et. al.*, 2016).

2.3.1 Uji aktivitas antibakteri

Langkah difusi dan dilusi keduanya dapat digunakan untuk pengujian :

1. Metode Difusi

Sensitivitas antimikroba dari mikroorganisme uji ditentukan dengan menggunakan metode difusi. Ada atau tidak adanya daerah yang terwujud di sekitar kertas cakram, adanya zona yang dapat menghambat perkembangan bakteri. Ada 3 metode difusi biasanya dapat dimanfaatkan yaitu metode sumuran, cakram disk dan silinder :

- a. Metode difusi sumuran, pembuatan lubang tegak terhadap padat yang di inokulasi bakteri. Setelah menyesuaikan relasi dan posisi lubang untuk pemeriksaan, lubang diisi dengan sampel yang akan diperiksa. Pertumbuhan bakteri dipantau setelah inkubasi untuk memeriksa apakah ada zona hambat di sekitar lubang. Karena bakteri di bagian atas dan bawah nutrisi aktif, area zona hambat yang dihasilkan lebih mudah diukur menggunakan metode ini.
- b. Metode difusi cakram, hal ini dilakukan dengan menyerap senyawa antimikroba yang direndam dalam sampel uji menggunakan kertas cakram, disimpan pada masa tunas samapi 24 jam pada temperatur 35C setelah ditaruh pada permukaan media untuk disinfeksi kultur mikroba uji (Nurhayati *et al.*, 2020). Area bening pada permukaan agar menunjukkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme agen pada antimikroba. Keuntungannya adalah kemudahan penggunaan dan fleksibilitas lebih tinggi padapemilihan obat (Fitriana *et al.*, 2019). Hasil

pengamatan pada daerah bening di sekitar cakram disk menunjukkan ada tidaknya zona hambat pada perkembangan bakteri (Mukaromah, 2020).

Tabel 2. 1 Klasifikasi zona hambat

No.	Luas Zona Hambat (Diameter)	Zona Hambat
1.	> 20 mm	Sangat Kuat
2.	10 - 20 mm	Kuat
3.	5 - 10 mm	Sedang
4.	< 5 mm	Lemah

c. Metode silinder dengan menempatkan media agar dengan bakteri dan menempatkan banyak silinder stainless di atasnya. Setiap silinder ditempatkan pada media agar dan diisi larutan yang di ujikan. Perkembangan bakteri diteliti setelah inkubasi untuk memeriksa apakah ada zona hambat di sekitar silinder (Kusmiyati & Agustini, 2007).

2. Metode Dilusi

Tehnik pengerjaan pada metode dilusi diantaranya, dilusi perbenihan cair dan dilusi agar :

a. Metode dilusi cair, pembuatan rangkaian pengenceran senyawa antimikroba dalam media cair dengan mikroorganisme uji untuk mengetahui KHM (Kadar Hambat Minimum) (Fitriana *et al.*, 2019). Ada dua jenis pengenceran diantaranya makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya sama namun perbedaannya pada volumenya. Volume yang dipakai untuk makrodilusi lebih besar dari 1ml, volume untuk mikrodilusi adalah 0,05 ml - 0,1 ml (Soleha, 2015).

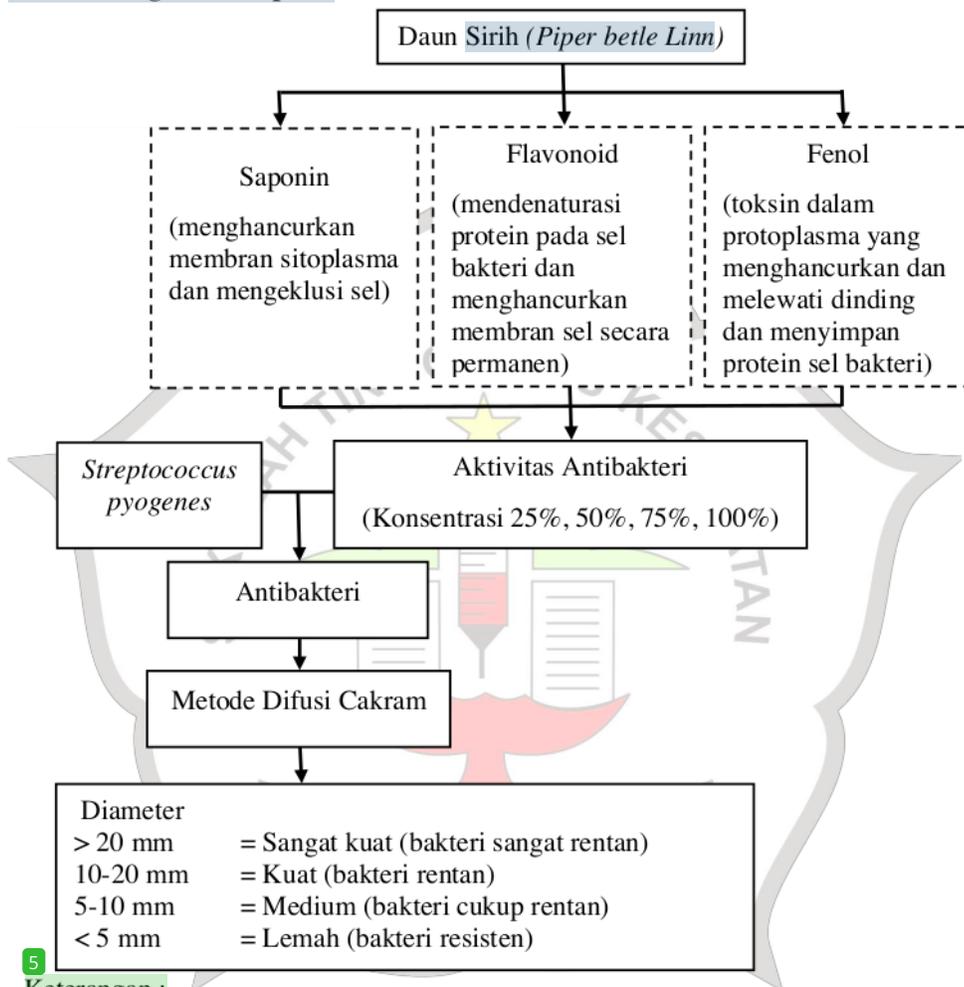
b. Metode dilusi agar, dengan menginokulasikan mikroorganisme uji pada media agar yang mengandung senyawa antimikroba, maka dapat ditentukan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum) (Fitriana *et al.*, 2019). Tujuan dari metode dilusi agar adalah untuk mengukur aktivitas antimikroba (Soleha, 2015). Metode ini memiliki keuntungan karena dapat menguji beberapa mikroorganisme uji dengan satu konsentrasi zat antimikroba yang diuji (Fitriana *et al.*, 2019).

2.4 Peneliti sebelumnya

Penelitian terkait daun sirih terhadap bakteri *Streptococcus sp.*, telah dilakukan oleh Samrotul Fuadi yang menguji pada bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan metode *In vitro*. Zona hambat rata-rata yang ditentukan oleh bening yang dibuat dengan 25% konsentrasi yaitu 14,6mm pada nilai Sd. 0,57 diperoleh dalam penelitian ini. Konsentrasi 50%, adalah 17,6mm dengan Sd. 0,57. Konsentrasi 75%, adalah 19mm dengan Sd.1. Konsentrasi 100%, adalah 19mm dengan Sd. 1 (Fuadi *et al.*, 2014). I Made Sumarya dkk melakukan penelitian aktivitas anti bakteri loloh dengan air tirisan dan air rebusan daun sirih pada bakteri *Streptococcus pyogenes* pengaruh timbulnya radang tenggorokan (Sumarya *et al.*, 2019).

KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konseptual



5

Keterangan :

————— : Diteliti
 - - - - - : Tidak Diteliti

4

Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Uji Aktivitas Antibakteri Air Rebusan Daun Sirih (*Piper betle Linn*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan Metode Difusi Cakram

3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Saponin, flavonoid dan tanin merupakan tiga komponen kimia pada daun sirih. Metode atau langkah difusi cakram agar melihat ada atau tidak adanya zona penghambat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* setelah dikerjakan pengujian aktifitas antibakteri daun sirih pada konsentrasi 25%, sampai konsentrasi 100 %.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan penelitian

Jenis riset yang digunakan yaitu riset deskriptif pada “Uji aktivitas antibakteri rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan metode difusi cakram”. Riset deskriptif melibatkan pendeskripsian dan interpretasi suatu subjek (Linarwati *et al.*, 2016). Dalam penelitian ini, uji difusi cakram digunakan untuk menentukan ada tidaknya zona penghambat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* pada riset ini.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

4.2.1. Waktu Penelitian

Waktu yang digunakan pada tanggal 13 Agustus – 31 Agustus 2021 mulai dari awal pembuatan proposal sampai laporan akhir.

4.2.2. Tempat Penelitian

Tempat yang digunakan yaitu Laboratorium Mikrobiologi program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang menjadi lokasi penelitian.

4.3 Populasi Penelitian, Sampling dan Sampel

4.3.1 Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan yaitu air rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) dan isolat bakteri *Streptococcus pyogenes* dari Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Jombang.

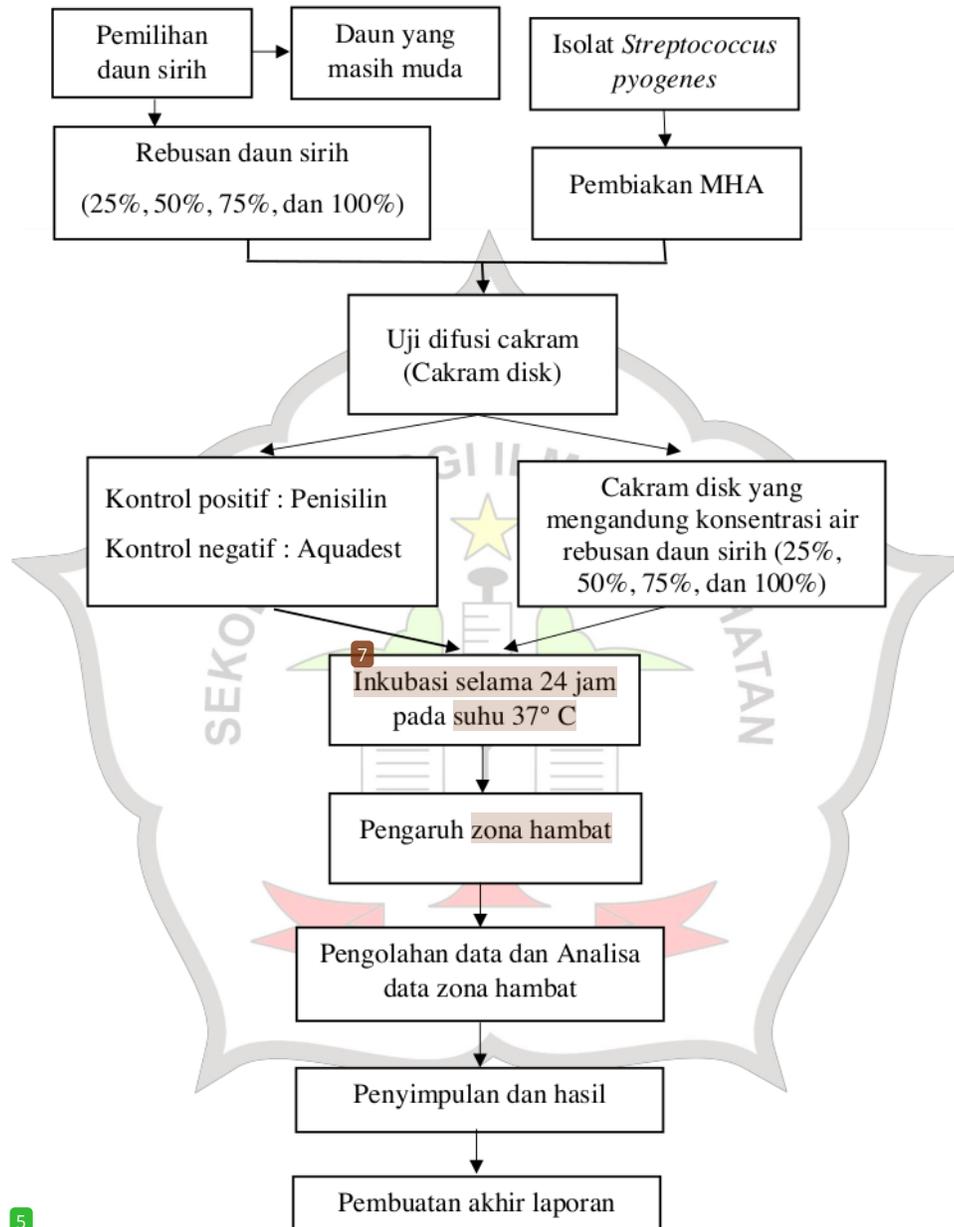
4.3.2 Sampling

Adapun *sampling* menggunakan *Simple Random Sampling*, yang merupakan langkah guna memilih sampel pada suatu populasi secara random/atau acak, dengan setiap peserta populasi mempunyai peluang yang sama pada pemilihan (Harahap *et al.*, 2018). Untuk inokulasi, isolat murni bakteri *Streptococcus pyogenes* dikumpulkan menggunakan ose bulat.

4.3.3 Sampel

Objek yang akan dianalisa dan termasuk bagian dari karakteristik populasi disebut dengan sampel (Sugiarto, 2016). Pada riset ini menggunakan air tirsan daun sirih dan suspensi isolate murni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang diperoleh dari RSUD Jombang dan telah diremajakan.

4.4 Kerangka Kerja (Frame Work)



5
Gambar 4.1 Kerangka Kerja Uji Aktifitas Air Rebusan Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* Dengan Metode Difusi Cakram

5 4.5 Definisi Operasional Variabel

4.5.1 Variabel

Variabel merupakan konsep mengandung nilai bermacam-macam dari satu objek ke objek lainnya (Nasution, 2017). Variable yang digunakan yaitu rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*)

5 4.5.2 Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan pengertian kekhususan (variable) yang dianalisa dan diukur untuk menguji kesempurnaan suatu variabel (Sugiarto, 2016).

41 Tabel 4.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat Ukur	Kriteria	Skala
Aktivitas antibakteri rebusan daun sirih (<i>Piper betle L.</i>) terhadap pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	Kemampuan rebusan daun sirih (<i>Piper betle L.</i>) dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	Uji antibakteri difusi metode cakram	Penggaris mm	>34 mm (Sangat kuat) 10-20 mm (Kuat) 5-10 mm (Medium) < 5 mm (Lemah) (Mukaromah, 2020)	1 Ordinal

4.6 Pengumpulan Data

4.6.1 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian adalah bahan yang dipakai mengukur suatu objek atau mengumpulkan data untuk penelitian (Adib, 2015).

4.6.2 Alat dan Bahan

Berikut ini adalah instrumen yang dipakai dalam penelitian,

A. Alat yang digunakan :

1. Gunting
2. Tempat sampel
3. Neraca analitik
4. *Beaker glass*
5. *Enlemeyer*
6. *Hotplate*
7. *Autoclave*
8. Oven
9. Cawan petri
10. Batang pengaduk
11. Tabung inokulum
12. Ose bulat
13. *Mikropipet*
14. Pinset
15. Inkubator
16. Api bunsen
17. Penggaris mm
18. *Cotton bud*
19. Pipet
20. Kapas dan Kertas koran
21. Densi Check McFarland
22. *Refrigerator*

B. Bahan yang digunakan :

1. Daun sirih muda
Daun sirih anom mempunyai kandungan lebih banyak diastase, gula, dan minyak atsiri daripada daun sirih yang lebih tua. Meskipun kandungan pada tanin sama (Willianti *et al.*, 2020).
2. Larutan NaCl 0,45%
3. Aquadest steril
4. Bakteri *Streptococcus pyogenes*
5. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

6. Media padat *Blood Agar Plate* (BAP)
7. Cakram disk penisilin
8. Cakram disk kosong
9. Spiritus
10. Kertas label

5

4.6.3 Prosedur Penelitian

A. Sterilisasi Alat

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan segala macam mikroorganisme yang hidup pada suatu benda. Sterilisasi berguna untuk mensterilitaskan alat yang digunakan (Istini, 2020).

- 1) Membungkus semua alat – alat yang terbuat dari kaca dengan kertas koran.
- 2) Masukkan blue tip ke dalam beaker glass dan bungkus pakai kertas koran.
- 3) Isi erlenmeyer dengan 1000ml aquadest, lalu tutup mulut erlenmeyer dengan kapas dan bungkus pakai kertas koran.
- 4) Setelah semua siap, masukkan kedalam autoklaf agar disterilisasikan sampai 15 menit pada temperatur 121°C.
- 5) mensterilisasi jarum ose dan pinset pada merendam dengan alkohol 70% dan membakarnya dengan api bunsen. (Armaleni et al., 2019)

B. Pembuatan Rebusan Daun Sirih

- 1) Dicuci daun sirih kemudian daun dipotong kecil-kecil.

- 2) Ditimbang daun sirih sebanyak 200 gram dengan neraca analitik, kemudian rebus ke dalam panci dan ditambahkan 700 ml aquadest selama 15 menit.
- 3) Hasil rebusan dimasukkan dalam beaker glass steril dan tutup.
(Amanda, 2018)

C. Pembuatan Konsentrasi Air Rebusan Daun Sirih

- 1) (pipet 2,5 ml air tirisan daun sirih tambahkan 7,5 ml aquades dalam tabung reaksi dan tutup dengan kapas) untuk konsentrasi 25%.
- 2) (pipet 5 ml air rebusan daun sirih tambahkan 5ml aquades pada tabung reaksi dan tutup dengan kapas) untuk konsentrasi 50%.
- 3) (pipet 7,5 ml air tirisan daun sirih tambahkan 2,5 ml aquades dalam tabung reaksi dan tutup dengan kapas) untuk konsentrasi 75%.
- 4) (pipet 10 ml air rebusan daun sirih dalam tabung reaksi dan tutup dengan kapas) untuk konsentrasi 100%. (Amanda, 2018)

D. Pembuatan Media MHA

- 1) Menimbang serbuk *Mueller-Hinton Agar* (MHA) sebanyak 1,75 gram, larutkan dengan 150 ml aquadest dalam beaker glass.
- 2) Homogenkan dan panaskan diatas hot plate dan aduk hingga mendidih.
- 3) Media tersebut diautoklave selama 15 menit pada suhu 121°C.
- 4) Media MHA ditambahkan pada setiap wadah petri steril dan dibiarkan pada suhu kamar sampai membeku lalu disimpan dalam refrigerator.
(Utomo *et al.*, 2018).

E. Pembuatan Media Blood Agar Plate (BAP)

- 1) Menimbang serbuk *Blood Agar Plate* (BAP) sebanyak 16 gram dan larutkan dengan 400 ml aquadest.
- 2) Homogenkan dan panaskan diatas hotplate.
- 3) Disterilisasi dalam autoclave sampai 15 menit pada suhu 121°C.
- 4) Diamkan sampai hangat, sekitar 40°C, lalu tambahkan 25 mL darah domba dan kocok perlahan.
- 5) Tuang kedalam capet steril dan masukkan ke dalam refrigerator untuk disimpan (Krihariyani *et al.*, 2016).

F. Peremajaan Bakteri *Streptococcus pyogenes*

- 1) Ambil satu ose bulat biakan murni dan digoreskan pada biakan Blood Agar Plate (BAP).
- 2) Didiamkan sampai 24 jam pada temperatur 37°C. (Eriwiyatno *et al.*, 2012)

G. Langkah Suspensi yang distandarisasi menggunakan McFarland 0.5

- 1) Siapkan tabung inokulum, lalu masukkan larutan NaCl 0,45% sebanyak 3 mL.
- 2) Kemudian ambil koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* menggunakan cotton bud, homogenkan dalam larutan NaCl tersebut.
- 3) Kekeruhan diukur dengan menggunakan alat 0,5 McFarland density meter (Ryani, 2014).

H. Uji Aktivitas Antibakteri

- 1) Mengambil alat *Muller-Hinton Agar* (MHA) masukkan ke dalam cawan petri hingga permukaan rata dan masukkan suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* kemudian ratakan.
- 2) Ditempel cakram disk yang telah direndam air rebusan daun sirih selama 15 menit masing – masing konsentrasi mulai mulai 25% sampai 100%.
- 3) Kontrol positif ditempelkan cakram disk antibiotik penisilin, clindamycin, dan eritromisin terhadap alat *Muller-Hinton Agar* (MHA) yang sudah dimasukkan suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes*.
- 4) Ditempelkan cakram disk kosong ke dalam aquadest steril, sebagai kontrol negatif.
- 5) Media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) diinkubasi dalam inkubator 37°C sampai 24 jam pada letak berlawanan
- 6) Diukur setiap zona bening disekeliling cakram menggunakan penggaris mm.(Sarifati et al., 2020)

4.7 Teknik Pengolahan Data dan Analisa Data

4.7.1 Teknik Pengolahan Data

1) Coding

Proses penerjemahan data berupa frase atau huruf menjadi angka atau data numerik disebut dengan coding (Mukaromah, 2020). Berikut ini adalah kode yang diberikan oleh peneliti dalam penelitian ini :

Air Rebusan Daun Sirih	KODE
25 %	A1
50 %	A2
75 %	A3
100 %	A4
Kontrol Positif	KP1
Kontrol Negarif	KN2

2) Tabulating

Tabulating adalah mengelompokkan data berdasarkan tujuan penelitian dan menetapkannya ke table yang disiapkan sesuai dengan tujuan pada riset atau preferensi penelitian (Mukaromah, 2020).

4.7.2 Analisa Data

Analisis data dilaksanakan oleh peneliti sesudah data terangkai ialah memberi penilaian terhadap penelitian tersebut apakah pada masing – masing konsentrasi terdapat zona hambat yang berwarna bening di daerah sekitar cakram dan mengukur daya hambatnya jika membentuk zona hambat.

BAB 5

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Pengamatan

Riset ini dikerjakan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang. Adapun sampelnya yaitu air tirisan daun sirih dan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Pada riset ini dilakukan dengan air rebusan daun sirih yang didapatkan menggunakan cara merebus daun sirih dengan aquadest steril. Setelah didapatkan air rebusan daun sirih tersebut dilakukan penelitian “Uji Aktivitas Antibakteri Air Rebusan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* Dengan Metode Difusi Cakram”.

Table 5. 1 Hasil Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Air Rebusan Daun Sirih (*Piper betle Linn*) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* Dengan Metode Difusi Cakram

Konsentrasi	Hasil			Rata - Rata	Kategori (Mukaromah, 2020)
	1	2	3		
KP1 (Kontrol -)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	Tidak menghambat
KN2 (Kontrol +)	31 mm	34 mm	30 mm	31,66 mm	Sangat kuat
A1 (25 %)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	Tidak menghambat
A2 (50 %)	0,88 mm	0 mm	0 mm	0,29 mm	Tidak menghambat
A3 (75 %)	30 mm	27 mm	29 mm	28,66 mm	Sangat kuat
A4 (100 %)	28 mm	31 mm	31 mm	30 mm	Sangat kuat

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, air rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) dapat memperlambat perkembangan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Hasil riset dalam kontrol negatif menunjukkan tidak ada zona penghambat, namun pada antibiotik penisilin kontrol positif mempunyai rerata zona penghambat 31,66 mm. Berdasarkan air rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) pada konsentrasi 25% sebanyak 0 mm, konsentrasi 50% yaitu 0,29mm sedangkan konsentrasi 75% yaitu 28,66 mm, dan konsentrasi 100% yaitu 30 mm.

5.2 Pembahasan

Dalam penelitian ini daun sirih (*Piper betle Linn*) digunakan sebagai uji aktivitas antibakteri pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Pada proses pengolahan daun sirih dengan metode rebusan, diperoleh konsentrasi 25% sampai 100%. Uji antibakteri pada bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan cara difusi cakram agar mengetahui pembentukan zona penghambat. Proses penelitian dilakukan dengan mensterilkan alat kemudian merebus air untuk daun sirih dengan langkah membersihkan daun sirih segar dalam keadaan air mengalir, kemudian ditimbang 50 gram dan dipotong kecil-kecil. Daun sirih kemudian direbus dengan aquadest 100 mL sampai mendidih dan disaring setelah setengah dingin. Membuat air rebusan daun sirih konsentrasi 25% sampai 100%. Menggunakan media BAP dan MHA sesuai prosedur, kemudian melakukan peremajaan bakteri *Streptococcus pyogenes* dan simpan dalam inkubator selama 24 jam. Selanjutnya pembuatan suspensi yang distandarisasi menggunakan McFarland 0,5 hingga didapatkan hasil yang sesuai, pada tahap

akhir dilakukan uji aktivitas antibakteri pada setiap konsentrasi dan disimpan dalam inkubator sampai 24 jam.

Pada penelitian air rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) menghasilkan rata-rata daya hambat pada konsentrasi 25% sejumlah 0mm, konsentrasi 50% sejumlah 0,29mm dan termasuk kategori tidak menghambat. Menurut peneliti mungkin hal tersebut dapat terjadi akibat kontaminasi atau kandungan dari zat aktif pada air rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) sedikit sekali sehingga tidak mampu menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes* atau adanya kesalahan pada proses pengerjaannya. Menurut (Amanda et al., 2019) hal tersebut disebabkan oleh zat aktif daun sirih dalam pengenceran 25%-50% masih terlalu sedikit untuk mampu menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes* dan sebagian besar terdiri dari pengencer (aquadest steril) yang tidak dapat menghentikan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Pada konsentrasi 75% diameternya adalah 28,66 mm, dan pada konsentrasi 100% diameternya adalah 30 mm dan termasuk dalam kategori sangat kuat, karena terdapat zona bening. Menurut peneliti, pada konsentrasi tersebut semakin tinggi konsentrasi pada air rebusan daun sirih yang digunakan, semakin meningkat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Menurut (Amanda et al., 2019) pada konsentrasi 75%-100% semakin besar konsentrasi air rebusan daun sirih. sehingga semakin tinggi pula zat aktif terlarutnya, karena semakin sedikit pengencer yang digunakan. Maka larutan dengan konsentrasi yang lebih tinggi akan mempunyai zat aktif yang lebih pekat.

BAB 6

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan menurut penelitian ini aktivitas pada antibakteri air rebusan daun sirih (*Piper betle Linn*) dapat menghambat perkembangan bakteri *Streptococcus pyogenes*, dengan rata-rata daya hambat dengan kategori sangat kuat.

6.2 Saran

6.2.1 Bagi Peneliti Selanjutnya

Diharapkan riset ini sebagai salah satu sumber data dan acuan riset dengan mengembangkan pemanfaatan lain dari daun sirih (*Piper betle Linn*) dan metode lain yang mungkin berguna dalam menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes* yang lebih efektif.

6.2.2 Bagi Masyarakat

luarahan temuan pada riset diharapkan dapat membantu masyarakat dengan meningkatkan pemanfaatan daun sirih dengan lebih baik untuk terapi dan obat herbal pada pengobatan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

- Adib, H. S., (2015). *Teknik Pengembangan Instrumentasi Penelitian Ilmiah Di Perguruan Tinggi Keagamaan Islam*. 139–157.
- 30 Amanda, S. (2018). *Uji Aktivitas Antibakteri Rebusan Daun Sirih (Piper betle Linn) Terhadap Bakteri Streptococcus pyogenes*.
- Amanda, S., Mastra, N., & Sudarmanto, I. G. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Rebusan Daun Sirih (Piper betle Linn) Terhadap Bakteri Streptococcus pyogenes. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 7(1), 37–43. <https://doi.org/10.33992/m.v7i1.639>
- Armaleni, Nasir, N., & Agustien, A. (2019). *Antagonis Pseudomonas fluorescense indigenus pada Ralstonia solanacearum Tanaman Tomat (Lycopersicum esculentum)*. 6 (september 2021), 119–122.
- 2 Carolia, N., & Noventi, W. (2016). *Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L .) sebagai Alternatif Terapi Acne vulgaris The Potential of Green Sirih Leaf (Piper betle L .) for Alternative Therapy Acne vulgaris*. 5.
- 2 Dwivedi, V., & Tripathi, S. (2014). *Review study on potential activity of Piper betle*. 3(4), 93–98.
- 26 Effa, & Puetri, N. R. (2018). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus Isolat Dari Penderita Faringitis*. September. <https://doi.org/10.22435/sel.v2i2.4638.57-65>
- Eriwiyatno, L., & Krihariyani, D. SSBU, D., (2012). Pengaruh Madu terhadap Perkembangan Bakteri Streptococcus pyogenes. *In Analis Kesehatan Sains (pp. 30–37)*.
- 15 Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2019). *Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih : Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum)*. 16(2), 101–108.
- 33 Fuadi, S., 31 Fuadi, P., Dokter, P., Kedokteran, F., Ilmu, D. A. N., Islam, U., & Syarif, N. (2014). Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L .) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus pyogenes In Vitro.
- 10 Harahap, M., Sulardiono, B., & Suprpto, D. (2018). *Analisis Tingkat Kematangan Gonad Teripang Keling (Holothuria atra) Di Perairan Menjangan Kecil, Karimunjawa*. 7, 263–269.

- 16 Istini. (2020). Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(3), 41. <https://doi.org/10.22146/ijl.v2i3.57424>
- 22 Krihariyani, D., Woelansari, E. D., & Kurniawan, E. (2016). Pola Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Manusia Golongan O , AB , Dan Darah Domba Sebagai Kontrol. *Atcc 25923*, 191–200.
- 4 Kusmiyati, & Agustini, N. W. S. (2007). Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. 8, 48–53.
- 11 Linarwati, M., Fathoni, A., & Minarsih, M. M. (2016). Studi Deskriptif Pelatihan Dan Pengembangan Sumberdaya Manusia Serta Penggunaan Metode Behavioral Event Interview Dalam Merekrut Karyawan Baru Di Bank Mega Cabang Kudus. *Journal of Management*, 2(2), 1.
- 18 Maharani, T., Sukandar, D., & Hermanto, S. (2016). Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi dari Ekstrak Etil Asetat Daun Nannam (*Cynometra Cauliflora L .*) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri. 2(1), 55–62.
- 1 Mukaromah, AA. R., (2020). Daya Hambat Ekstrak pada Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) terhadap perkembangan Bakteri *Escherichia coli*. *Orphanett Journal of Rare Disease*, vol 21ed (1), 1–9.
- 14 Napitupulu, H. N., Ibrahim, M., & Simanjuntak, M. (2016). Karakteristik Penderita Faringitis Akut Di Poliklinik Tht Rumah Sakit Tk II Putri Hijau Kesdam I / Bukit Barisan Medan Tahun 2016. 240–244.
- Nasution, S. (2017). *Variabel Penelitian*. 1–9.
- 25 Nihayatul, M. (2017). Pengaruh Konsentrasi Antibakteri Propolis Terhadap Perkembangan Bakteri *Streptococcus pyogenes* Secara In Vitro.
- 9 Novita, W. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper Betle L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Secara in Vitro. *Jmj*, 4(2), 140–155.
- 6 Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode DIFUSI Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. 1(September), 41–46. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- 2 Pradhan, D., Suri, K. A., Pradhan, D. K., & Biswasroy, P. (2013). *Golden Heart of the Nature : Piper betle L .* 1(6), 147–167.

- Pratama, L. P., Purwanta, M., & Qurnianingsih, E. (2019). Efektivitas ekstrak etanol biji kurma mesir (*Phoenix dactylifera L.*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes* secara in vitro. 19(3), 135–140.
- Pribadi, A. D., Yudhana, A., & Chusniati, S. (2020). Isolasi dan Identifikasi *Streptococcus* sp. dari Sapi Perah Penderita Mastitis Subklinis di Purwoharjo Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 3(1), 51. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.51-56>
- Ryani, N. (2014). Pengaruh Lama Penyinaran Sinar Lampu Ultraviolet-C terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Acinetobacter baumannii*.
- Sari, D. O., Hadibrata, E., & Oktafany. (2019). Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) sebagai Pengganti Antibiotik pada *Prostatitis Green Betel Leaves (Piper betle L.) as a Substitute for Antibiotics in Prostatitis*. 9, 252–256.
- Sari, E. P. (2020). Aktivitas Antibakteri Madu Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. 7(1), 28–33.
- Sarifati, Y. B., Ismail, S., & Kosala, K. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mekai (*Pycnarrhena cauliflora* DIELS.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 246. <https://doi.org/10.51352/jim.v6i2.369>
- Sidharti, L., Pemula, G., Lisiswanti, R., & Soleha, T. U. (2015). Kesesuaian Peresepan Penyakit Faringitis Akut terhadap Standar P28 gobatan di Puskesmas Rawat Inap Simpung Bandar Lampung Tahun 2013 *The Suitability of Drug Receipt for Treatment of Acute Pharyngitis Disease on Standard of Treatment in Simpung Puskesmas Band*.
- Soleha, T. U. (2015). Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. 3–7.
- Sugiarto, E. (2016). Analisis Emosional, Kebijakan Pembelian Dan Perhatian Setelah Transaksi Terhadap Pembentukan Disonansi Kognitif Konsumen Pemilik Sepeda Motor Honda Pada UD. *Dika Jaya Motor Lamongan*. I(01), 34–47.
- Sumarya, I. M., Suarda, I. W., & Sudaryati, N. L. G. (2019). Aktivitas Antibakteri Lohol (Obat Tradisional Bali) Air Perasan Dan Air Rebusan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* Penyebab Radang Tenggorokan. *Jurnal Sains Kimia*, vol 22 ed (5), 173–b178.
- Tenda, P. E., Lenggu, M. Y., & Ngale, M. S. (2017). *Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract of Faloak Tree Skin (Sterculia sp.) On Staphylococcus Aureus Bacteria*. 1, 227–239.

- ⁶ Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri ⁶ Senyawa Cresorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. 3(3), 201–209.
- ³⁷ W, R. D., Pujiastuti, P., & Ermawat, T. (2009). Perbedaan efektifitas antibakteri antara ekstrak daun sirih merah (. 1–5)
- Willianti, E., Theodora, & Parmasari, W. D. (2020). ²⁷ Analisa Aktivitas Antibakteri Rebusan Daun Sirih Dengan Rebusan Daun Kemangi Terhadap Pertumbuhan ⁴⁵ bakteri *Streptococcus mutans*. *Hang Tuah Medical Journal*, 18(1), 36. <https://doi.org/10.30649/htmj.v18i1.459>



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR REBUSAN DAUN SIRIH (Piper betle Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Streptococcus pyogenes DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM

ORIGINALITY REPORT

27%

SIMILARITY INDEX

26%

INTERNET SOURCES

12%

PUBLICATIONS

14%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Forum Perpustakaan Perguruan Tinggi Indonesia Jawa Timur Student Paper	3%
2	eprints.umm.ac.id Internet Source	2%
3	tabikpun.fmipa.unila.ac.id Internet Source	2%
4	text-id.123dok.com Internet Source	2%
5	repo.stikesicme-jbg.ac.id Internet Source	1%
6	eprints.ums.ac.id Internet Source	1%
7	repositori.usu.ac.id Internet Source	1%
8	docobook.com Internet Source	1%

9	repository.unair.ac.id Internet Source	1 %
10	e-repository.perpus.iainsalatiga.ac.id Internet Source	1 %
11	jbasic.org Internet Source	1 %
12	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	1 %
13	repo.unhi.ac.id Internet Source	1 %
14	www.scribd.com Internet Source	1 %
15	Submitted to Universitas Airlangga Student Paper	1 %
16	repository.wima.ac.id Internet Source	1 %
17	jurnal.akfarsam.ac.id Internet Source	1 %
18	jurnal.stikes-aisyiyah-palembang.ac.id Internet Source	1 %
19	e-journal.unair.ac.id Internet Source	<1 %
20	es.scribd.com Internet Source	<1 %

21	hes-gotappointment-newspaper.icu Internet Source	<1 %
22	repository.unimus.ac.id Internet Source	<1 %
23	adoc.pub Internet Source	<1 %
24	www.otempo.pt Internet Source	<1 %
25	lib.unnes.ac.id Internet Source	<1 %
26	Submitted to Universitas Islam Indonesia Student Paper	<1 %
27	journal-medical.hangtuah.ac.id Internet Source	<1 %
28	id.123dok.com Internet Source	<1 %
29	www.e-repository.unsyiah.ac.id Internet Source	<1 %
30	Submitted to Kyungpook National University Student Paper	<1 %
31	repository.unmuhjember.ac.id Internet Source	<1 %
32	Submitted to Universitas Jenderal Achmad Yani	<1 %

33 akper-sandikarsa.e-journal.id <1 %
Internet Source

34 eprints.poltekkesjogja.ac.id <1 %
Internet Source

35 jurnal.fkip.unila.ac.id <1 %
Internet Source

36 garuda.ristekbrin.go.id <1 %
Internet Source

37 www.coursehero.com <1 %
Internet Source

38 jurnal.poltekkeskupang.ac.id <1 %
Internet Source

39 paskeranalisis.wordpress.com <1 %
Internet Source

40 jurnal.unsyiah.ac.id <1 %
Internet Source

41 repository.stikes-bhm.ac.id <1 %
Internet Source

42 docplayer.info <1 %
Internet Source

43 koleksidatatugasakhir.blogspot.com <1 %
Internet Source

44 lisafergus.blogspot.com

Internet Source

<1 %

45

www.scilit.net

Internet Source

<1 %

46

repository.ub.ac.id

Internet Source

<1 %

47

eprints.undip.ac.id

Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off