

**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*)
PADA PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli***

(Studi di Laboratorium Mikrobiologi STIKES ICME Jombang)

KARYA TULIS ILMIAH



**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA
JOMBANG
2020**

**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*)
PADA PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli***

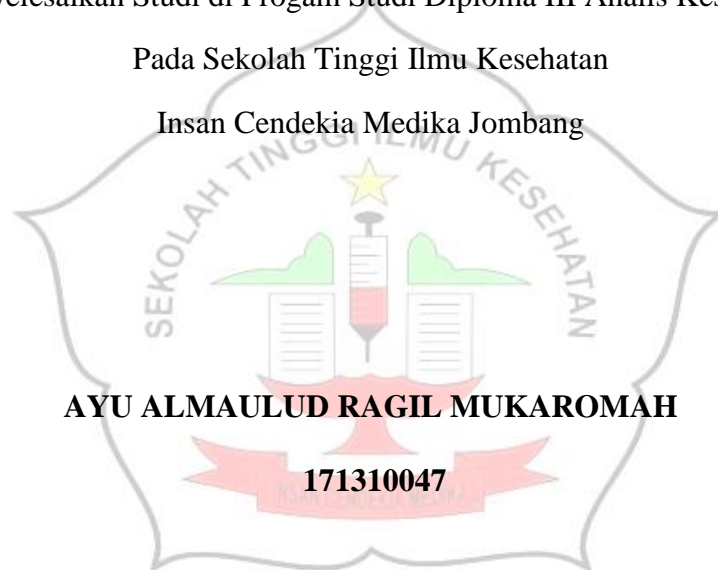
(Studi di Laboratorium Mikrobiologi STIKes ICMe Jombang)

KARYA TULIS ILMIAH

Karya Tulis Ilmiah Diajukan Dalam Rangka Memenuhi Persyaratan
Menyelesaikan Studi di Progam Studi Diploma III Analis Kesehatan

Pada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan

Insan Cendekia Medika Jombang



**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA
JOMBANG
2020**

Inhibition of green betel leaf (Piper betle L.) EXTRACT ON THE GROWTH OF BACTERIA Escherichia coli

(Study in the Microbiology Laboratory of STIKES ICME Jombang)

Ayu A. Ragil Mukaromah * Anthofani Farhan ** Nurlia Isti Malatuzzaulfa ***

ABSTRACT

Introduction Infection is still a growing health problem in the world. one of which is a diarrheal disease caused by pathogenic microorganisms such as the *Escherichia coli* bacteria. Treatment of this infectious disease by administering antibiotics. The rational use of antibiotics can reduce bacterial resistance to antibiotics. Then it is treated with natural antimicrobials, one of which is by using green betel leaf extract (*Piper betle L.*). betel leaf. This betel leaf contains substances such as essential oils, phenols, kavikols, alkaloids, tannins, and flavonoids which can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria. **Objective** this study to determine the inhibition power of green betel leaf extract (*Piper betle L.*) on the growth of *Echerichia coli* bacteria.

Method in this research was descriptive, with samples used were pured cultures of the pathogenic bacterium *Escherichia coli*, and green betel leaf extract. The concentrations used in this study were 25%, 50%, 75%, and 100%.

Results are sensitive enough to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria.

Conclusion is that green betel leaf extract (*Piper betle L.*) can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: *Green Betel Leaf, Escherichia coli, Antibiotics*

**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*)
PADA PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli***
(Studi di Ruang Laboratorium Mikrobiologi STIKES ICME Jombang)

Ayu A. Ragil Mukaromah*Anthofani Farhan**Nurlia Isti Malatuzzaulfa***

ABSTRAK

Pendahuluan Infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang berkembang di dunia. Salah satunya penyakit diare yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri *Escherichia coli*. Pengobatan penyakit infeksi ini dengan pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik yang diberikan secara rasional dapat mengurangi resistensi bakteri terhadap antibiotik. Maka diperlakukan antimikroba alami salah satunya dengan menggunakan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*). Daun sirih ini memiliki kandungan zat seperti minyak atsiri, fenol, kavikol, alkaloid, tannin, dan flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli*. **Tujuan** untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) pada pertumbuhan bakteri *Echerichia coli*.

Metode pada penelitian ini adalah deskriptif, dengan sampel yang digunakan biakan murni dari bakteri patogen *Escherichia coli*, dan ekstrak daun sirih hijau. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Hasil cukup sensitif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Kesimpulan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kesimpulan hasil penelitian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci : Daun Sirih Hijau, *Escherichia coli*, Antibiotik

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Ayu Almaulud Ragil M

NIM : 171310007

Jenjang : Diploma

Program Studi : Analis Kesehatan

Demi pengembangan ilmu pengetahuan menyatakan bahwa karya tulis ilmiah saya yang berjudul :

“Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper Betle L) Pada Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli“ Merupakan karya tulis ilmiah dan artikel yang secara keseluruhan benar benar bebas dari plagiasi. Apabila di kemudian hari terbukti melakukan proses plagiasi, maka saya siap di proses sesuai dengan hukum dan undang-undang yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Jombang 13 Agustus 2020

Saya yang menyatakan

A handwritten signature in black ink is written over a green 6000 Rupiah postage stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'METERAI TEMPEL', '6000', and 'ENAM RIBU RUPIAH'. The serial number '08145AER50221624' is also visible on the stamp.

Ayu Al Maulud Ragil M
NIM 171310007

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Ayu Almaulud Ragil M

NIM : 171310007

Jenjang : Diploma

Program Studi : Analis Kesehatan

Demi pengembangan ilmu pengetahuan menyatakan bahwa karya tulis ilmiah saya yang berjudul :

“Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper Betle L) Pada Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli“ Merupakan karya tulis ilmiah dan artikel yang secara keseluruhan adalah hasil karya penelitian penulis, kecuali teori yang dirujuk dari sumber informasi aslinya.

Demikian pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Jombang 13 Agustus 2020

Saya yang menyatakan



Ayu Al Maulud Ragil M

NIM 171310007

LEMBAR PERSETUJUAN KARYA TULIS ILMIAH

Judul Karya Tulis Ilmiah : Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle*
L.) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Nama Mahasiswa : Ayu Almaulud Ragil M.

Nomor Pokok : 171310047

Program Studi : DIII Analis Kesehatan

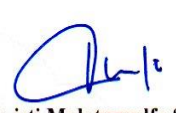
Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota


Anthofan Farhan S. Pd., M. Si

NIK. 01.16.845


Nurlia isti Malatuzzulfa S.ST., M.Kes

NIK. 02.12.549

Mengetahui,

Ketua

Ketua

STIKes ICMe Jombang

Progran Studi DIII Analis Kesehatan


H. Hidar Fatonni, S.KM., MM

NIK. 03.04.022


Sri Sayekti, S.Si., M.ked.

NIK. 05.03.019

PENGESAHAN PENGUJI


Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Disusun oleh


Ayu Almaulud Ragil M.

Telah dipertahankan di depan dewan penguji pada tanggal 27 Agustus dan
dinyatakan telah memenuhi syarat
Jombang, 27 Agustus 2020

Komisi Penguji,



Anthofani Farhan S. Pd., M. Si
Penguji Anggota



Nurlia isti Malatuzzulfa S.ST., M.Kes
Penguji Anggota

Mengetahui,



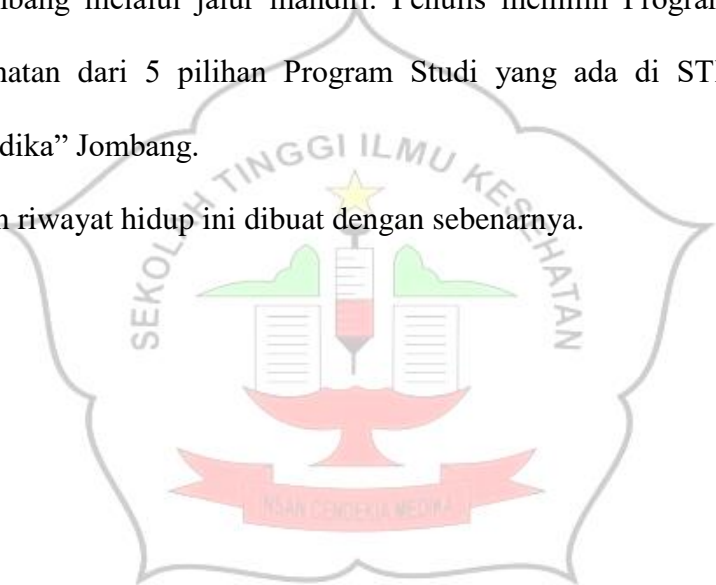
DR. M. Zainul Arifin Drs., M.Kes
Penguji Utama

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jombang, 04 juli 1998 dari pasangan Bapak Winaryo dan Ibu Turah Maysaroh. Penulis merupakan anak kelima dari lima bersaudara.

Tahun 2011 penulis lulus dari SDN Candimulyo IV, tahun 2014 penulis lulus dari SMPN 3 Jombang, tahun 2017 penulis lulus dari SMK Bahkti Indonesia Medika Jombang dan penulis masuk Perguruan Tinggi STIKES “Insan Cendekia Medika” Jombang melalui jalur mandiri. Penulis memilih Program Studi DIII Analis Kesehatan dari 5 pilihan Program Studi yang ada di STIKES “Insan Cendekia Medika” Jombang.

Demikian riwayat hidup ini dibuat dengan sebenarnya.



Jombang, Mei 2020
Saya yang menyatakan

Ayu Almaulud Ragil M.
NIM. 171310047

MOTTO

“Sesuatu yang belum dikerjakan, seringkali terlihat mustahil. Kita baru yakin kalau Kita telah berhasil melakukannya dengan baik. Tetap optimis sampai garis finish”



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, berkat dan rahmat serta bimbingan-Nya kami dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichi coli*”**. Karya Tulis Ilmiah ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana analis kesehatan (Amd.Ak) pada Program Studi DIII Analis Kesehatan STIKES Insan Cendekia Medika Jombang.

Karya tulis ilmiah ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Diploma III Analis Kesehatan di STIKes Insan Cendekia Medika Jombang. Penulis menyadari, keberhasilan penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak yang sudah memberikan semangat, masukan, dan do'a kepada penulis, oleh karena itu dengan rasa bahagia penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak H. Imam Fatoni, S.KM., MM, selaku ketua STIKes Insan Cendekia Medika Jombang yang telah memberikan kesempatan menyusun laporan tugas akhir ini.
2. Ibu Sri Sayekti, S.Si., M. Kes selaku ketua Program Studi D-III Analis Kesehatan STIKes Insan Cendekia Medika Jombang yang telah memberikan kesempatan menyusun Laporan Tugas Akhir ini.
3. Bapak Anthoni Farhan, S.Pd., M.Si, selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dalam menyusun laporan tugas akhir ini.
4. Ibu Nurlia Isti Malatuzzulfa, S.ST., M.Kes, selaku pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini.

5. Ibu Turah Maysaroh selaku orang tua kandung saya terimakasih atas do'a, dukungan dan semangat yang telah diberikan selama menyusun karya tulis ilmiah ini.
6. Bapak dan ibu dosen STIKes Insan Cendekia Medika Jombang serta staf dan seluruh karyawan atas segala fasilitas dan pelayanan akademik yang diberikan selama ini.
7. Kepada si prioritas terimakasih atas dukungannya, motivasi, semangat, perhatian, dan sabar menemani dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
8. Seluruh teman dan sahabat seperjuangan saya yaitu mahasiswa angkatan 2017 serta semua pihak yang telah membantu dan mendukung agar karya tulis ilmiah ini dapat selesai tepat waktu.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih memerlukan kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun guna menambah pengetahuan dan manfaat bagi ilmu kesehatan.

Jombang, Mei 2020
Saya yang menyatakan

Ayu Almaulud Ragil M.
NIM. 171310047

DAFTAR ISI

Halaman

| | |
|---|--------------|
| HALAMAN JUDUL | |
| HALAMAN JUDUL DALAM | i |
| ABSTRACT | ii |
| ABSTRAK | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN | iv |
| PERNYATAAN BEBAS PLAGIAS | iv |
| PERSETUJUAN KARYA TULIS ILMIAH | vi |
| LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI | vii |
| RIWAYAT HIDUP | viii |
| MOTTO | ix |
| KATA PENGANTAR | x |
| DAFTAR ISI | xii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| DAFTAR SINGKATAN | xviii |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| 1.4.1 Manfaat Teoritis | 4 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Daun Sirih | 5 |
| 2.1.1 Pengertian Daun Sirih | 5 |
| 2.1.2 Kandungan Kimiawi Daun Sirih | 6 |
| 2.1.3 Manfaat Daun Sirih | 7 |

| | |
|--|----|
| 2.2 <i>Escherichia coli</i> | 7 |
| 2.2.1 Klasifikasi <i>Escherichia coli</i> | 7 |
| 2.2.2 Morfologi <i>Escherichia coli</i> | 8 |
| 2.2.3 Patogenitas <i>Escherichia coli</i> | 9 |
| 2.3 Aktivasi Antibakteri | 10 |
| 2.3.1 Definisi Antibakteri | 10 |
| 2.3.2 Pengamatan Zona Hambat | 11 |
| 2.3.3 Definisi Antibiotik | 12 |
| 2.4 Uji Aktivasi Antibakteri | 12 |
| 2.4.1 Metode Difusi | 12 |
| 2.4.2 Metode Dilusi | 14 |
| 2.4.3 Metode Ekstraksi | 15 |
| 2.4.4 Pengamatan Zona Hambat | 17 |
| BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL | |
| 3.1 Kerangka Konseptual | 18 |
| 3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual | 19 |
| BAB 4 METODE PENELITIAN | |
| 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian | 20 |
| 4.2 Waktu dan Tempat Penelitian | 20 |
| 4.2.1 Waktu Penelitian | 20 |
| 4.2.2 Tempat Penelitian | 20 |
| 4.3 Populasi dan Sampel | 20 |
| 4.3.1 Populasi Penelitian | 20 |
| 4.3.2 Sampel | 21 |
| 4.3.3 Teknik Sampling | 21 |
| 4.4 Kerangka kerja | 22 |
| 4.5 Variabel dan Definisi Operasional Variabel | 23 |
| 4.5.1 Variabel Penelitian | 23 |
| 4.5.2 Definisi Operasional Variabel | 23 |
| 4.6 Instrumen Penelitian dan Prosedur Penelitian | 24 |
| 4.6.1 Instrumen Penelitian | 24 |
| 4.6.2 Prosedur Penelitian | 25 |

| | |
|--|----|
| 4.7 Teknik Pengolahan dan Analisa Data..... | 28 |
| 4.7.1 Teknik Pengolahan Data..... | 28 |
| 4.7.2 Analisa Data | 29 |
| 4.8 Etika penelitian | 29 |
| 4.8.1 <i>Anonimity</i> (Tanpa Nama)..... | 29 |
| 4.8.2 <i>Confidentially</i> (Kerahasiaan)..... | 30 |
| BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 5.1 Hasil | 31 |
| 5.2 Pembahasan..... | 32 |
| BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN | |
| 6.1 Kesimpulan | 38 |
| 6.2 Saran..... | 38 |
| DAFTAR PUSTAKA | 39 |
| LAMPIRAN | 41 |



DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 2.1 Klarifikasi Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri | 13 |
| Tabel 4.1 Definisi Operasional dari Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 24 |
| Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle L.</i>) Pada Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 32 |



DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Daun Sirih | 6 |
| Gambar 2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 8 |
| Gambar 2.4 Gambar Pengamatan Zona Hambat Bakteri..... | 16 |
| Gambar 3.1 Kerangka konseptual Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle L.</i>) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Eshcerichia coli</i> | 17 |
| Gambar 4.1 Kerangka kerja (Frame Work) dari Daya Hambat Ekstrak Daun Hijau (<i>Piper betle L.</i>) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 21 |



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

| | |
|--|----|
| Lampiran 1 Dokumentasi Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle L.</i>) Pada Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 42 |
| Lampiran 2 Dokumentasi Hasil Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle L.</i>) Pada Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 43 |



DAFTAR SINGKATAN

| | |
|------------------|--|
| AIDS | : <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> |
| CO ₂ | : Karbondioksida |
| Depkes | : Departemen Kesehatan |
| EAEC | : <i>Enteraggregative Escherichia coli</i> |
| EHEC | : <i>Enterohaemorrhagic Escherichia coli</i> |
| EIEC | : <i>Enteroinvasasive Escherichia coli</i> |
| MHA | : <i>Medium Mueller Hinton</i> |
| EPEC | : <i>Enteropathogeni Escherichia coli</i> |
| ETEC | : <i>Enterotoxicogenic Escherichia coli</i> |
| H ₂ O | : Hidrogen Dioksida |
| HIV | : <i>Human Immunologi Virus</i> |
| KBM | : Kadar Hambat Minimum |
| KHM | : Kadar Bunuh Minimum |
| NB | : <i>Natirum Broth</i> |
| WHO | : <i>World Health Organization</i> |



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Escherichia coli merupakan bakteri yang mampu mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses, yang kemungkinan juga mengandung mikroorganisme enterik patogen lainnya. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan kasus diare (Brooks *et al*, 2004). Cara mengatasi infeksi bakteri dengan antibiotik. Pemberian antibiotik yang diberikan secara rasional dapat mengurangi resistensi bakteri terhadap antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan timbulnya resistensi yang didapat (Soleha, 2015). *Escherichia coli* termasuk bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. *Escherichia coli* juga bagian dari bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik didapatkan dari organisme lain, bakteri ini juga dapat menguraikan makanan menjadi zat organik, CO₂, H₂O, energy dan mineral. Bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Kusuma, 2010).

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa salah satu penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan terutama di Negara berkembang, penyakit tersebut adalah diare. WHO memperkirakan kurang lebih empat miliar kasus terjadi di belahan dunia dan 2,2 juta meninggal dan

sebagian besar anak dibawah umur. WHO juga menyatakan bahwa diare adalah penyebab kematian kedua pada anak dibawah umur 5 tahun. Data klinik menyatakan bahwa penyebab yang paling sering ditemukan adalah diare yang disebabkan oleh infeksi keracunan (Depkes RI, 2011). Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, parasit dan jamur. Penyakit infeksi dapat menyebar secara langsung atau tidak langsung, dari satu orang ke orang lain (WHO, 2017). Penyakit-penyakit infeksi yang banyak diderita masyarakat sebagian besar disebabkan oleh *Escherichia coli*. *Escherichia coli* termasuk bakteri oportunistis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. *Escherichia coli* ini dapat menyebabkan penyakit diare pada anak dan orang dewasa (Syahrurachman, *et al*, 2014).

Diare sendiri masih menjadi masalah kesehatan utama pada anak dibawah umur 5 tahun, khususnya di Negara berkembang seperti Indonesia (Segeren, 2005). Kejadian diare kurang dari satu miliar di tiap tahun di seluruh dunia, 25-35 juta diantaranya terjadi di Indonesia. Setiap anak balita mengalami diare dua sampai delapan kali dengan rata-rata 3,3 kali di tiap tahunnya (Wibowo, 2004). Diare salah satu penyebab utama tingginya angka kematian anak di dunia. WHO menyatakan bahwa penyebab utama kematian adalah diare (*post neonatal*) 14%, malaria 8%, injuri 3%, HIV-AIDS 2%. Penduduk Indonesia tiap tahun terdapat 112.000 kasus diare yang mengalami kematian pada semua golongan umur, pada balita terjadi 55.000 kasus kematian (Zubir, 2006).

Masyarakat Indonesia mencari alternatif pengobatan yang relatif lebih aman dan efektif yaitu dengan pemanfaatan obat dari bahan alam (Putri & Rahayu, 2013). Salah satu tanaman obat yang sering digunakan masyarakat Indonesia adalah tanaman sirih-sirihan (family *Piperaceae*). Jenis yang sering kita temui antara lain sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), sirih hijau (*Piper betle*), lada (*Piper nigrum*), dan lain-lain (Heinrich, *et al*, 2009). Daun sirih merah mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid, alkohol, polifenolat, tannin, dan minyak atsiri (Marliyana, 2013). Minyak atsiri merupakan salah satu komponen kimia yang dapat digunakan sebagai sumber antibakteri.

Sirih (*Piper betle*) merupakan tumbuhan obat yang sangat besar manfaatnya dan mengandung zat antiseptik pada seluruh bagiannya terutama pada daunnya yang banyak digunakan sebagai bahan obat tradisional. Khasiat daun sirih banyak dikenal dan sudah teruji hingga kini penelitian tentang tanaman ini masih terus dikembangkan. Daun sirih telah berabad-abad dikenal oleh nenek moyang kita sebagai tanaman obat berkhasiat, tidak hanya dikenal sebagai tumbuhan obat, tanaman ini juga punya tempat istimewa dalam acara-acara adat di sejumlah daerah di Indonesia (Triarsari : 2005). Daun sirih berkhasiat juga sebagai obat batuk, antiseptik dan obat kumur, kandungan zat-zatnya, yaitu : Minyak atsiri sampai 4,2% yang mengandung pula fenol yang khas disebut betlephenol atau aseptosol, Kavikkol dan suatu seskuiterpen, Diastase 0,8% - 1,8% dan zat penyamak, gula dan pati. Dari hasil penelitian ternyata sepertiga minyak atsiri tersebut terdiri dari phenol dan sebagian besar adalah kovikol. Kovikol inilah yang memberikan bau khas daun sirih dan

memiliki daya pembunuh bakteri lima kali lipat dari phenol biasa (Moeljanto : 2003).

Berdasarkan uraian diatas, untuk mengetahui kemungkinan ekstrak sirih hijau (*Piper bitle*) sebagai daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan pada penelitian ini akan mempelajari bagaimana kandungan antibakteri pada kandungan sirih hijau yaitu minyak atsiri.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

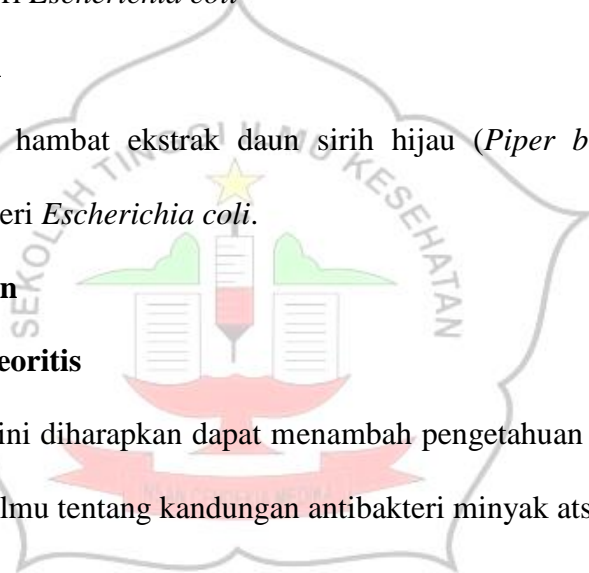
1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan mengenai ilmu tentang kandungan antibakteri minyak atsiri daun sirih.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Sirih (*Piper betle*)

2.1.1 Pengertian Daun Sirih

Sirih merupakan jenis tanaman yang tergolong dari famili *Piperaceae*. Tanaman ini bias menjalar hingga 5-15m, tempat pertumbuhan merupakan salah satu faktor pertumbuhan tanaman sirih. Sirih memiliki batang berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, berkerut, dan beruas yang merupakan tempat keluarnya akar. Tanaman ini memiliki daun yang berbentuk bulat, pangkal daunnya memiliki bentuk seperti jantung, berujung runcing, sedangkan tepi daunnya rata, bertangkai, dan memiliki permukaan yang halus, jika disentuh dapat mengeluarkan bau yang khas (aromatik). Panjang daun 6-17,5 cm dan lebar 3,5-10 cm. Daun sirih mempunyai warna yang bervariasi dari kuning, hijau, hijau tua sampai warna merah. Sirih dapat tumbuh subur di daerah tropis dengan ketinggian 300-1.000 m diatas permukaan laut, terutama di tanah yang banyak mengandung bahan organik dan cukup banyak air.

Berdasarkan penelitian, daun sirih hijau (*Piper betle*) termasuk di dalam klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Division : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Ordo : *Piperales*
Family : *Piperaceae*

Genus : *Piper*
Spesies : *Piper betle linn*



Gambar 2.1. Daun Sirih (Farhan, 2019).

2.1.2 Kandungan kimiawi Daun Sirih

Daun sirih memiliki kandungan 1- 4,2% minyak atsiri yang terdiri atas fenol dan beberapa komponen seperti hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, estradiol, eugenol, metal-eugenol, karvakrol, terpende, sekuiterpena, feniln, propane, tannin, gula dan pati (James, 2002). Efek dari daun sirih hijau dikarenakan kandungan minyak atsiri yang komponennya yang berkhasiat sebagai antibakteri. Dengan khasiat daun sirih sebagai antibakteri, hal ini dapat dimanfaatkan baik sebagai antibakteri untuk mencegah penyakit diare (Wulan Noventi dan Novia Carolina, 2016). Daun sirih memiliki cukup banyak kandungan air, protein, karbohidrat, serat, minyak esensial, dan alkholid. Daun sirih juga mengandung beberapa vitamin seperti vitamin C, asam nikotink, vit A, thiamine, riboflavin. Dan juga mineral yang terdiri atas kalsium, besi, iodin, fosfor, potassium.

2.1.3 Manfaat Daun Sirih Hijau

Beberapa literature menyebutkan bahwa daun sirih memiliki sifat *styptic* (menahan perdarahan), *vulnerary* (menyembuhkan luka kulit), menguatkan gigi dan membersihkan tenggorokan. Selain itu daun sirih juga memiliki ekstraknya mampu melawan beberapa bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Sehingga masyarakat memanfaatkan daun sirih sebagai pengobatan atau penyembuhan penyakit. Konsumsi daun sirih hijau ini digunakan untuk penyembuhan sebab memiliki minyak atsiri yang terdiri dari *phenol* serta sebagai besar *kavikol*. *Kavikol* inilah yang memberikan bau khas daun sirih serta memiliki sifat bakterisida lima kali lipat dari *phenol* biasa. Fenol memiliki tugas sebagai pembunuh mikroorganisme dengan cara menguraikan protein sel, dengan berprosesnya protein sel maka semua aktivitas metabolisme sel dikatalisis oleh enzim yang merupakan suatu protein (Syukur, 2011).

2.2 *Escherichia coli*

2.2.1 Klarifikasi *Escherichia coli*

Escherichia coli ialah bakteri yang berasal dari family *Enterobacteriaceae*. Bakteri *Escherichia coli* ialah spesies dengan habitat alami dalam saluran pencernaan organ manusia maupun hewan. *Escherichia coli* pertama kali diisolasi oleh Theodor Escherich dari tinja anak kecil pada tahun 1885. Nama *Escherichia coli* ini diberikan pada tahun 1920 sebagai penghargaan terhadap Theodor Escherich (Berg, 2004).

Menurut Songer dan Post tahun 2005 klarifikasi dari *Escherichia coli* sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobakteria
 Family : Enterobacteriaceae
 Genus : Escheriachia
 Spesies : *Escherichia coli*

2.2.2 Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli memiliki ukuran sel dengan panjang 2,0-6,0 mikron dan lebar 1,5 mikron dan juga berat sel *Escherichia coli* 2×10^{12} gram. Bakteri ini berbentuk batang, lurus, tunggal, dan berpasangan, termasuk bakteri gram negatif (-) dapat hidup berkelompok, umumnya motil, tidak berbentuk spora, serta fakultatif anaerob (carter & wise, 2004). Berikut adalah gambar morfologi dari sel *Escheichia coli* :



Gambar 2.2. Bakteri *Escherichia coli* (Kunkel, 2009).

Escherichia coli tidak memiliki nukleus, organel terbungkus membrane maupun sitoskeleton. *Echerichia coli* memiliki organel eksternal yaitu fli merupakan filament tipis untuk menangkap substrat spesifik, serta flagella ialah filament tipis serta lebih panjang untuk berenang. *Escherichia coli* merupakan bakteri fakultatif anaerob, kemoorganotropik, memiliki tipe metabolisme fermentasi serta respirasi, tetapi pertumbuhannya dibawah

keadaan anaerob. *Escherichia coli* berwujud circular, konveks serta koloni tidak berpigmen pada media darah. *Escherichia coli* tidak dapat bertahan dengan keadaan kering atau desinfektan biasa serta bakteri ini akan mati pada suhu 60°C selama 30 menit (Anonim, 2012).

2.2.3 Patogenitas *Escherichia coli*

Escherichia coli ialah flora normal usus, menghasilkan kolisin yang akan melindungi saluran pencernaan dari bakteri usus yang patogen. *Escherichia coli* berperan sangat penting dalam sintesis vitamin K, asam-asam empedu serta penyerapan zat-zat makanan. *Escherichia coli* termasuk bakteri heterotrof yang mendapatkan makanan berupa zat organik (sisa organisme) dari lingkungannya sebab tidak mampu menyusun sendiri yang dibutuhkannya. Bakteri ini dapat menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energy, dan mineral. Di dalam lingkungan bakteri pembusuk ini berperan sebagai pengurai serta penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswarna, 1995).

Keberadaan bakteri *Escherichia coli* di samping dapat membantu untuk pengetahuan serta pengembangan ilmu pengetahuan serta dimanfaatkan di berbagai bidang ilmu, bakteri ini mampu membahayakan kesehatan. *Escherichia coli* menjadi patogen jika dalam saluran pencernaan meningkat di luar usus (Jawetz *et al*, 1995).

Bakteri *Escherichia coli* termasuk mikroflora alami yang terdapat di saluran pencernaan manusia dan hewan. Beberapa galur *Escherichia coli* yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia ialah Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC),

Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC), serta Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) (Brooks *et al*, 2005).

2.3 Aktivasi antibakteri

2.3.1 Definisi antibakteri

Antibakteri ialah suatu zat yang mampu membatasi perkembangan bakteri serta membunuh bakteri, terutama bakteri patogen. Zat antibakteri harus memiliki sifat toksisitas selektif, yaitu berbahaya bagi parasit tapi tidak berbahaya bagi inangnya. Antibakteri mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membrane sel bekerja sebagai bakterisid (membunuh bakteri), sedangkan yang mempengaruhi sintesis protein bekerja sebagai bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) (Xia *et al*, 2010).

Menurut Jawetz *et al*, (2007), mekanisme kerja antibakteri dapat dilakukan dengan cara yaitu :

1. Menghambat sintesis dinding sel

Peptidoglikan ialah bagian penting dari dinding sel, yang menimbulkan untuk mempertahankan bentuk mikroorganisme serta menahan sel bakteri. Mekanisme antibakteri yaitu dengan merusak dinding sel.

2. Menghambat sintesis protein

Sal--ah satu yang dilakukan dengan menghambat pelekatan tRNA serta mRNA ke ribosom, sehingga mampu mengganggu proses translasi serta transkripsi.

3. Pengubahan fungsi membrane plasma

Membran sitoplasma mempertahankan bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan lain. Kerusakan pada membrane ini mengakibatkan terhambatnya perkembangan sel.

4. Penghambat sintesis asam nukleat

DNA, RNA, dan protein berperan sangat penting dalam proses kehidupan sel. Maka dari itu jika mengalami gangguan yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan pada sel. Antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA *Dependent* dan RNA *Polymerase* bakteri sehingga dapat menghambat sintesis RNA bakteri.

2.3.2 Pengamatan Zona Hambat

Pengamatan zona hambat ini bertujuan untuk mengetahui apakah jika dinyatakan positif atau negatif. Jika zona hambat membentuk transparan di sekitar kertas cakram maka dinyatakan positif, begitu sebaliknya jika tidak membentuk transparan di sekitar kertas cakram maka dinyatakan negatif. Langkah untuk mengetahui dengan menggunakan jangka sorong yang dapat menghitung dari zona hambat yang terbentuk oleh adanya antibakteri.

2.3.3 Definisi Antibiotik

Antibiotik berasal dari kata *anti* dan *bios*. *Anti* berarti melawan, membunuh, membasmi, sedangkan *Bios* berarti hidup. Antibiotik adalah zat kimia yang dihasilkan dari berbagai organisme yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Antibiotik tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antibiotiknya ditingkatkan melebihi kadar hambat minimal (KHM) (Ganiswara *et al*, 1995). Sifat-sifat toksik yang terbentuk memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri dengan antibiotik tersebut.

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri adalah untuk menentukan kemampuan dasar suatu zat yang diduga telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz, dkk, 2010). Menurut Jawetz *et al*. 2007, penentuan bakteri patogen terhadap antimikroba mampu melakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi.

2.4.1 Metode Difusi

Pada metode penentuan aktivasi didasarkan pada kemampuan difusi dari antimikroba dalam lempeng agar diinokulasi dengan mikroba uji. Pada metode ini yang dilakukan yaitu letakkan zat antibakteri pada media agar yang sudah diinokulasi oleh bakteri, dan dilanjutkan inkubasi. Selanjutnya terbentuknya zona jernih di sekitar zat antibakteri dengan daya hambat perkembangan bakteri. Pada metode ini dapat dilakukan dengan cara, yaitu :

a. Metode Difusi Cakram

Pada metode ini cakram kertas saring yang berfungsi sebagai tempat penampung zat antimikroba. Kertas saring diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, selanjutnya diinkubasi pada waktu dan suhu yang sudah ditentukan, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada metode ini, hasil yang diperoleh akan diamati setelah diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang didapatkan pada daerah bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang menunjukkan ada tidaknya zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Arief, 2007).

Tabel 2.1 Klasifikasi Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri (Nazri *et al*, 2011).

| Luas Zona Hambat | Zona Hambat Pertumbuhan |
|----------------------|-------------------------|
| Zona Hambat > 20 mm | Daya Hambat Sangat Kuat |
| Zona Hambat 10-20 mm | Daya Hambat Kuat |
| Zona Hambat 5-10 mm | Daya Hambat sedang |
| Zona Hambat 0-5 mm | Daya Hambat Lemah |

b. Cara parit

Pada metode ini lempeng agar yang diinokulasi dengan mikroba uji, dibuat sebidang parit yang berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi. Cara untuk membaca hasil pengamatan dilihat dari ada tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekitar parit (Arief, 2007).

c. Cara Sumuran

Pada metode ini lempeng agar yang sudah diinokulasi dengan uji mikroba, dibuat suatu lubang yang akan diberi dengan zat antimikroba uji dan diisi dengan zat uji pada setiap lubang. Cara untuk membaca hasil pengamatan dilihat ada atau tidaknya zona hambat di sekitar lubang (Bonang, 1992).

2.4.2 Metode Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji (Pratiwi, 2008). Metode dilusi dibedakan menjadi dua, yaitu :

a) Dilusi cair (Broth Dilution Test/Serial Dilution)

Pada metode ini dapat digunakan untuk mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) pertama yang harus dilakukan untuk menggunakan metode ini dengan membuat seri pengenceran antimikroba pada kadar paling rendah untuk menunjukkan paling jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KHM. Tahap berikutnya larutan KHM dikultur ulang oleh media padat tetapi tanpa menggunakan penambahan mikroba uji dan dilanjutkan menginkubasi selama 17-24 jam. Jika media padat tetap jernih ditetapkan sebagai KBM.

b) Dilusi Padat (Solid Dilution Test)

Pada metode ini sama halnya dengan dilusi cair, tetapi pada metode ini menggunakan dilusi padat saja. Kelebihan dari metode ini adalah konsentrasi antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

2.4.3 Metode Ekstraksi

1) Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solven) sebagai *separating agent*. Pemisahan ini bertujuan untuk menarik zat aktif dalam sampel (Anonim, 2015).

2) Jenis-jenis ekstraksi :

a. Ekstraksi metode dingin

Pada metode ini tidak ada proses pemanasan selama ekstraksi berlangsung, tujuannya untuk menghindari rusaknya senyawa karena pemanasan.

➤ Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan

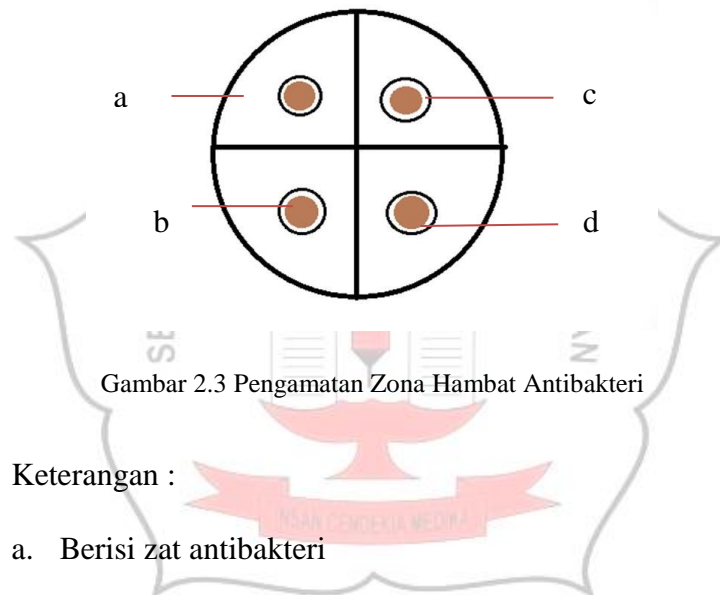
ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Heirich *et al*, 2009).

Maserasi ialah cara ekstraksi yang paling sering digunakan dan membutuhkan waktu yang singkat. Dasar dari maserasi ialah dapat melarutkan bahan kandungan simplisa dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (diffuse) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah maserasinya selesai artinya keseimbangan antara ekstrak yang sudah masuk ke dalam pelarut artinya proses diffuse sudah berakhir (Heirich *et al*, 2009). Selama proses perendaman dilakukan pengadukan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan yang diekstraksi lebih cepat di dalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar pertandingan simplisa pada cairan ekstraksi akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Heirich *et al*, 2009).

b. Ekstraksi metode panas

Metode ini memakai proses pemanasan. Dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses pencarian dibandingkan dingin. Jenis ekstraksi ada 3 metode, yaitu refluks, ekstraksi dengan alat soxhlet dan infusa.

2.4.4 Pengamatan Zona Hambat



Gambar 2.3 Pengamatan Zona Hambat Antibakteri

Keterangan :

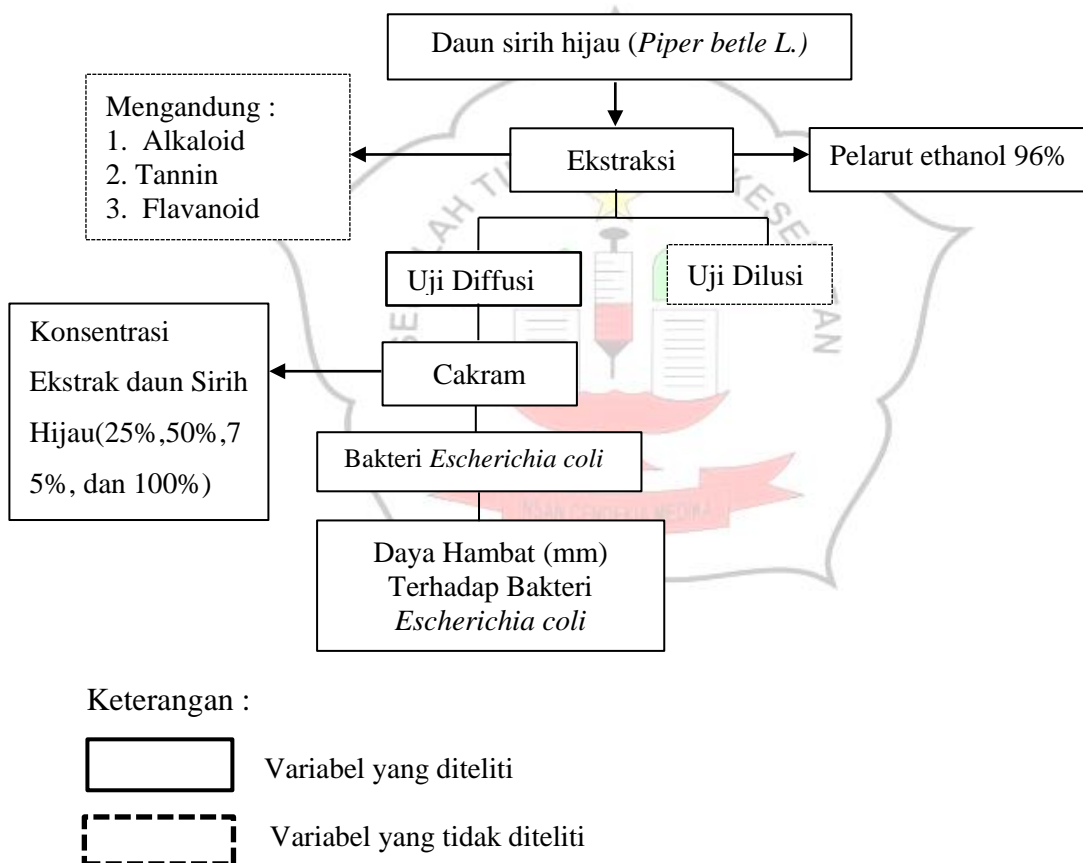
- a. Berisi zat antibakteri
- b. Cakram
- c. Zona transparan yang terbentuk
- d. Kultur *Escherichia coli* yang terbentuk.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual merupakan suatu visualisasi hubungan antara konsep satu terhadap konsep yang lainnya dari masalah yang akan diteliti (Notoatmojo, 2012). Kerangka konseptual dari judul Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* menggunakan ekstraksi daun sirih dengan metode difusi sebagai berikut.



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

3.2 Penjelasan kerangka konseptual

Pada kerangka konseptual diatas dapat dijelaskan pada uji daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang mengandung 3 komponen senyawa alkaloid, tannin dan flavonoid. Senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antimikroba pada bakteri. Pengujian ini dengan cara ekstraksi yang telah dicampur dengan ethanol 96% menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% untuk mengetahui daya hambat pada bakteri *Escherichia coli*.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian suatu cara untuk memperoleh kebenaran ilmu pengetahuan atau pemecah suatu masalah. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari variabel bebas ke variabel terikat, dimana variabel bebas adalah ekstrak daun sirih hijau dan variabel terikatnya adalah aktivitas antibakteri (Notoadmojo, 2012). Rancangan penelitian ini menggunakan metode difusi karena pada penelitian ini untuk mengetahui konsentrasi mendapatkan berapa zona hambat minimum pada bakteri *Escherichia coli*.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

4.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini mulai dilaksanakan dari awal penyusunan Karya Tulis Ilmiah sampai dengan penyusunan akhir, sejak bulan Maret sampai Juli 2020.

4.2.2 Tempat Penelitian

Tempat yang digunakan untuk melaksanakan penelitian ini di STIKes Insan Cendekia Medika Jombang, Kabupaten Jombang.

4.3 Populasi Penelitian dan Sampel

4.3.1 Populasi Penelitian

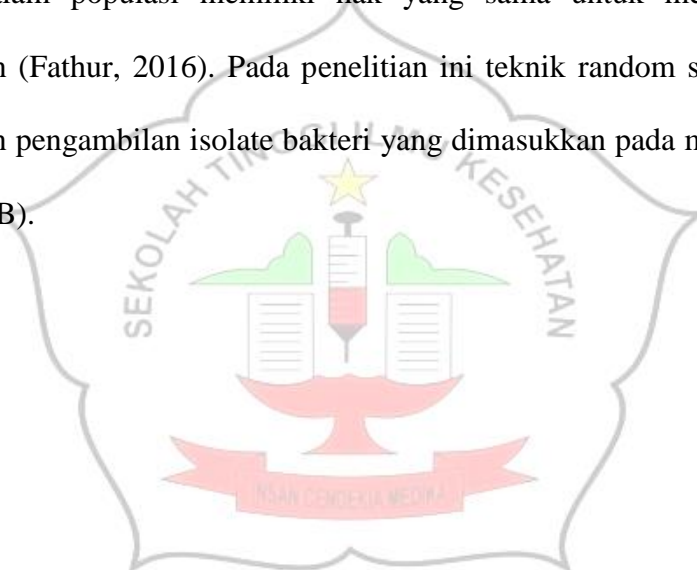
Populasi ialah keseluruhan objek penelitian atau objek yang akan diteliti (Notoatmojo 2010, h. 115). Pada penelitian tentang bakteri *Escherichia coli* yang didapatkan dari isolate bakteri di Balai Teknik Kesehatan Lingkungan Pengendalian Penyakit.

4.3.2 Sampel

Sampel ialah objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Notoatmojo, 2010). Pada penelitian ini sampel akan diambil dari Balai Teknik Kesehatan Lingkungan Pengendalian Penyakit.

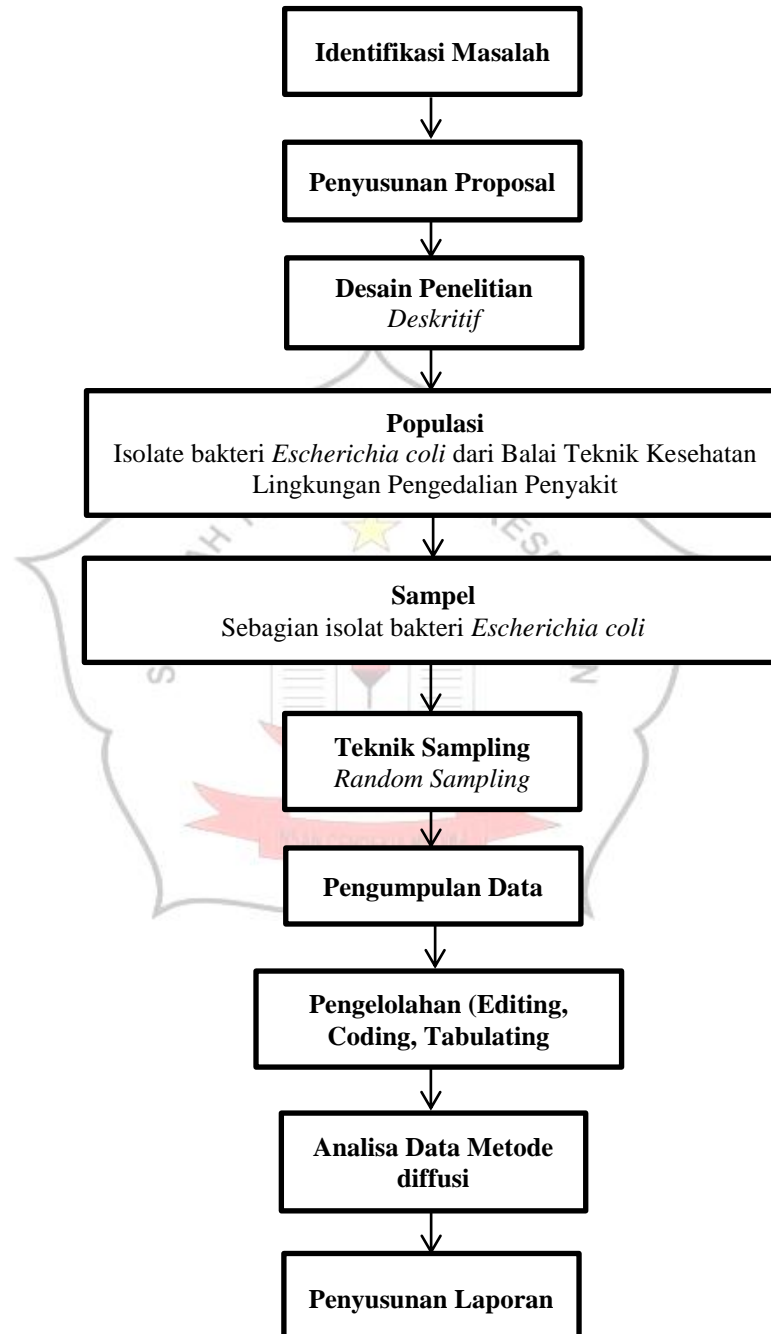
4.3.3 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan untuk pengambilan sampel pada penelitian secara acak. Pemilihan sampel teknik ini bukan sampel terpilih merupakan pemilihan berdasarkan keinginan dari peneliti sehingga setiap unsur dalam populasi memiliki hak yang sama untuk menjadi sampel penelitian (Fathur, 2016). Pada penelitian ini teknik random sampling yang dilakukan pengambilan isolate bakteri yang dimasukkan pada media *Nutrient Broth* (NB).



4.4 Kerangka Kerja

Kerangka kerja penelitian Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi sebagai berikut :



Gambar 4.1 Kerangka kerja (Frame Work) dari Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

4.5 Variabel dan Definisi Operasional Variabel

4.5.1 Variabel Penelitian

Variabel merupakan sesuatu yang digunakan sebagai ciri, sifat, atau ukuran yang dimiliki atau didapatkan oleh suatu penelitian tentang suatu konsep pengertian tertentu. Berdasarkan hubungan antara variabel satu dengan variabel lainnya (Nursalam, 2013). Variabel dari penelitian ini ialah Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.

4.5.2 Definsi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel merupakan uraian tentang batasan variabel yang dimaksud atau tentang apa yang diukur oleh variabel yang bersangkutan (Notoatmodjo 2010, h.112). Definisi operasional variabel pada penelitian ini disajikan pada table 4.1 sebagai berikut :

Tabel 4.1 Definisi Operasional dari Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.

| Variabel | Definisi Operasional | Parameter | Kategori | Skala Data |
|---|--|--|--|------------|
| Uji daya hambat ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle L.</i>) terhadap pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> | Kemampuan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> | Besaran Diameter Zona Hambat diantaranya : >20mm | - Sangat Kuat - Kuat - Sedang - Lemah | Ordinal |

4.6 Instrumen Penelitian dan Prosedur Penelitian

4.6.1 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian adalah alat yang digunakan untuk mengumpulkan data agar pekerjaan lebih mudah dan hasilnya lebih baik sehingga lebih mudah untuk diolah (Saryono, 2011). Instrumen yang digunakan untuk uji daya hambat ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebagai berikut :

A. Alat yang digunakan :

1. Autoclave
2. Beaker *glass*
3. Batang pengaduk
4. *Blue tip*
5. Cawan petri
6. *Centrifuge*
7. *Colony counter*
8. Corong glass
9. Erlenmeyer
10. *Hot plate*
11. Inkubator
12. Kertas karton
13. Kapas lidi
14. Kompor gas
15. Mikropipet 1000 ul
16. Neraca analitik

17. Oven
18. Spirtus
19. Rak tabung
20. Tabung reaksi
21. Pipet volume
22. Pinset

B. Bahan yang digunakan :

1. *Alumunium foil*
2. Aquadest steril
3. Bakteri *Escherichia coli*
4. Daun sirih hijau (*Piper betle L.*)
5. Etanol 96%
6. Handscoon
7. Masker
8. Kertas label
9. Kapas
10. Media padat *Medium Mueller Hinton* (MHA)

4.6.2 Prosedur Penelitian

A. Membuat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*)

1. Membersihkan daun sirih kemudian dipisahkan dengan tangkainya
2. Ditimbang 800 gram, kemudian dipotong-potong
3. Selanjutnya daun sirih tersebut dikeringkan dengan oven dengan suhu 37°C selama 24 jam dan ditimbang 140 gram.

4. Cara ini menggunakan maserasi dengan merendam daun sirih kedalam bejana maserasi secara terpisah kemudian diberi larutan etanol 96% sampai daun terendam sempurna.
5. Bejana maserasi ditutup dengan alumunium foil dan diamkan selama 3 hari sambil diaduk satu kali setiap hari.
6. Hasil yang diperoleh disaring dan diulangi sebanyak 3 kali.
7. Memanaskan diatas hot plate hingga volumenya berkurang dan agak mengental.
8. Memekatkan hasil ekstraksi dengan menggunakan centrifuge.

B. Sterilisasi

1. Memasukkan blue tip ke dalam beaker glass yang berisi kapas, menutup degan alumunium foil dan mensterilisasikan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
2. Membungkus tabung reaksi, batang pengaduk, pinset dan cawan petri dengan menggunakan kertas Koran/alumunium foil kemudian mensterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit
3. Mengisi Erlenmeyer dengan 1000 ml aquadest, menutup mulut Erlenmeyer menggunakan kapas dan dibungkus dengan alumunium foil/kertas Koran kemudian mensterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

C. Membuat Media Padat *Nutrient Agar* (NA)

1. Menimbang *Nutrient Agar* (NA) serbuk sebanyak 1,2 gram.
2. Melarutkan dengan 50 ml aquadest di dalam beaker glass.
3. Menghomogenkan campuran.

4. Memanaskan diatas hotplate dan diaduk sampai mendidih, lalu ditunggu beberapa menit.
5. Dipipet sebanyak 4 ml dan dimasukkan ke dalam 3 buah tabung reaksi.
6. Tabung reaksi ditutup menggunakan kapas dan dibungkus dengan alumunium foil/kertas koran.
7. Mensterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
8. Biarkan dingin dan masukkan ke dalam refrigerator untuk disimpan.

D. Membuat Media *Medium Mueller Hinton* (MHA)

1. Menimbang media *Medium Mueller Hinton* (MHA) sebanyak 1,2 gram.
2. Melarutkan dengan 50 ml aquadest dalam beaker glass
3. Menghomogenkan campuran
4. Memanaskan diatas hot plate dan mengaduk hingga mendidih, lalu dibiarkan beberapa saat
5. Dipipet sebanyak 4 ml dan dimasukkan ke dalam 3 buah tabung reaksi.
6. Tabung reaksi ditutup dengan kertas dan diikat menggunakan karet gelang.
7. Mensterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
8. Selanjutnya membiarkan dingin dan memasukkan ke dalam refrigenerator untuk disimpan.

E. Prosedur Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih hijau

1. Mempersiapkan cawan petri steril.
2. Mencairkan media MHA pada hot plate.
3. Mengencerkan ekstrak daun sirih hijau sesuai konsentrasi yang sudah ditentukan (25%, 50%, 75%, 100%) dengan aquadest steril.
4. Mengambil media MHA sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke cawan petri.
5. Memasukkan 1 ml suspensi bakteri.
6. Menghomogenkan semua campuran pada cawan petri dengan menggoyang-goyangkan secara perlahan.
7. Diamkan terlebih dahulu selama 20 menit.
8. Menempelkan kertas saring ekstrak daun sirih hijau sesuai konsentrasi (25%, 50%, 75%, 100%).
9. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
10. Mengamati terjadinya adanya zona hambat.
11. Mengukur zona hambat.

4.7 Teknik Pengolahan Data dan Analisa Data

4.7.1 Teknik Pengolahan Data Menggunakan *Editing, Coding, Tabulating*

a) *Editing*

Editing merupakan kegiatan pemeriksaan suatu data yang didapat cukup lengkap dan dapat diolah dengan baik (Notoatmodjo, 2010).

b) *Coding*

Coding merupakan kegiatan mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan (Notoatmodjo, 2010).

c) *Tabulating*

Tabulating meliputi pengelompokan data sesuai dengan tujuan penelitian kemudian dimasukkan ke dalam tabel-tabel yang sudah ditentukan sesuai dengan tujuan penelitian atau yang diinginkan oleh peneliti (Notoatmodjo, 2010).

4.7.2 Analisa Data

Data yang sudah terkumpul dianalisa oleh peneliti untuk memberikan penilaian terhadap penelitian apakah pada masing-masing konsentrasi terdapat zona hambat yang ditandai dengan daerah berwarna bening di sekitar cakram serta mengukur besar kecilnya daya hambat jika sampel tersebut membentuk zona hambat.

4.8 Etika Penelitian

Etika penelitian adalah suatu pedoman etika yang berlaku untuk setiap kegiatan penelitian yang melibatkan pihak peneliti dengan pihak yang diteliti dan masyarakat yang akan memperoleh dampak hasil penelitian tersebut (Notoatmojo, 2012). Pengambilan data dapat diambil dengan etika sebagai berikut :

4.8.1 Anonimity (Tanpa Nama)

Responden tidak perlu mencantumkan namanya pada lembar pengumpulan data. Cukup menulis nomor responden atau inisial saja untuk menjamin kerahasiaan identitas.

4.8.2 *Confidentially* (Kerahasiaan)

Kerahasiaan informasi yang didapatkan dari responden akan dijamin kerahasiaan oleh peneliti. Penyajian data atau hasil penelitian hanya ditampilkan pada forum akademis.



BAB 5

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini akan diuraikan hasil penelitian yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang pada bulan Juli 2020. Sampel yang digunakan yaitu ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dan media bakteri *Escherichia coli*.

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram untuk melihat adanya zona hambat yang terbentuk. Konsentrasi yang digunakan adalah 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hasil dari penelitian uji daya hambat ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah :

Tabel 5.1 Hasil pengamatan daya hambat ekstrak daun sirih pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

| No. | Pengulangan | Konsentrasi % | | | | Kontrol Positif | Keterangan |
|-----|-------------|---------------|-------|-------|-------|-----------------|------------|
| | | 25 | 50 | 75 | 100 | | |
| 1 | P1 | 22 mm | 23 mm | 24 mm | 25 mm | 25 mm | S.Kuat |
| 2 | P2 | 22 mm | 23 mm | 24 mm | 25 mm | 25 mm | S. Kuat |
| | Jumlah | 44 mm | 46 mm | 48 mm | 50 mm | 50 mm | S. Kuat |
| | Rata-rata | 22 mm | 23mm | 24 mm | 25mm | 25 mm | S. Kuat |

Sumber : Data primer 2020

Berdasarkan Tabel 5.1 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* karena menghasilkan zona hambat.

5.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi DIII Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang. Penelitian ini menggunakan daun sirih sebagai uji daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Pencairan daun sirih menggunakan metode maserasi untuk mendapatkan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%, sebagai kontrol positif digunakan antibiotik chloroampenicol dan kontrol negatif aquadest steril. Uji antimikroba bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram untuk melihat adanya zona hambat yang terbentuk. Hasil dari penelitian ekstrak daun sirih pada semua konsentrasi zona hambat rata-rata 25% yaitu 22mm, 50% yaitu 23mm, 75% 24mm yaitu, dan 100% yaitu 25mm dengan kontrol positif 25mm dan kontrol negatif tidak terdapat zona hambat.

Escherichia coli merupakan bakteri yang mampu mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses, yang kemungkinan juga mengandung mikroorganisme enteric patogen lainnya. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan kasus diare (Brooks *et al*, 2004). Cara mengatasi infeksi bakteri dengan antibiotik. Pemberian antibiotik yang diberikan secara rasional dapat

mengurangi resistensi bakteri terhadap antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan timbulnya resistensi yang didapat (Soleha, 2015). *Escherichia coli* termasuk bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. *Escherichia coli* juga bagian dari heterotroph yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik didapatkan dari organisme lain, bakteri ini juga dapat menguraikan makanan menjadi zat organik, CO₂, H₂O, energy dan mineral. Bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Kusuma, 2010).

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa salah satu penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan terutama di Negara berkembang, penyakit tersebut adalah diare. WHO memperkirakan kurang lebih empat miliar kasus terjadi di belahan dunia dan 2,2 juta meninggal dan sebagian besar anak dibawah umur. WHO juga menyatakan bahwa diare adalah penyebab kematian kedua pada anak dibawah umur 5 tahun. Data klinik menyatakan bahwa penyebab yang paling sering ditemukan adalah diare yang disebabkan oleh infeksi keracunan (Depkes RI, 2011). Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, parasit dan jamur. Penyakit infeksi dapat menyebar secara langsung atau tidak langsung, dari satu orang ke orang lain (WHO, 2017). Penyakit-penyakit infeksi yang banyak diderita masyarakat sebagian besar disebabkan oleh *Escherichia coli*. *Escherichia coli* termasuk bakteri oportunistis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. *Escherichia*

coli ini dapat menyebabkan penyakit diare pada anak dan orang dewasa (Syahrurachman, *et al*, 2014).

Pada konsentrasi 25% didapatkan besar zona hambat sebesar 22mm, pada konsentrasi ini memiliki daya hambat terkecil dari semua konsentrasi, tetapi pada konsentrasi ini masih tergolong memiliki daya hambat yang sangat kuat. hal ini dikarenakan kandungan senyawa pada ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) pada konsentrasi 25% sudah mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan baik, dikarenakan ekstrak daun sirih yang digunakan sebanyak 25mL dan aquadest sebanyak 75mL, sehingga kandungan minyak atsiri pada ekstrak daun sirih sedikit. Hal ini dikarenakan kandungan pada minyak atsiri terdiri atas fenol dan beberapa komponen seperti hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, estradiol, eugenol, metal-eugenol, karvakrol, terpende, sekuiterpena, feniln, propane, tannin, gula dan pati (James, 2002).

Pada konsentrasi 50% didapatkan besar zona hambat sebesar 23mm, pada konsentrasi ini memiliki ini daya hambat yang lebih besar dari konsentrasi sebelumnya, hal ini dikarenakan kandungan senyawa pada ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) pada konsentrasi 50% mampu menghambat bakteri *Escherichia coli*, karena kandungan minyak atsiri pada ekstrak daun sirih sedikit lebih pekat dibandingkan konsentrasi sebelumnya dikarenakan kandungan minyak atsiri yang komponennya yang berkhasiat sebagai antibakteri. Dengan khasiat daun sirih sebagai antibakteri, hal ini dapat dimanfaatkan baik sebagai antibakteri untuk mencegah penyakit diare (Wulan Noventi dan Novia Carolia, 2016).

Pada konsentrasi 75% didapatkan besar zona hambat sebesar 24mm, pada konsentrasi ini memiliki ini daya hambat yang lebih besar dari konsentrasi sebelumnya, hal ini dikarenakan kandungan senyawa pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) pada konsentrasi 75% dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*, karena kandungan fenol pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) lebih banyak dibandingkan konsentrasi sebelumnya dikarenakan. Hal ini dikarenakan fenol akan mendenaturasi protein, kadar fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran sitoplasma mengalami lisis (Nadhilla, 2014).

Pada konsentrasi 100% didapatkan besar zona hambat sebesar 25mm, hal ini disebabkan kandungan senyawa yang ada di dalam ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) lebih besar dan dapat menghambat tanpa penambahan aquadest steril. Hal ini dikarenakan *Kavikol* inilah yang memberikan bau khas daun sirih dan memiliki sifat bakterisida lima kali lipat dari *phenol* biasa. Cara kerja fenol membunuh suatu mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel, dengan berprosesnya protein sel maka semua aktivitas metabolisme sel dikatalisis oleh enzim yang merupakan suatu protein (Syukur, 2011).

Berdasarkan Tabel 5.1 menunjukkan bahwa sampel pada seluruh konsentrasi dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*. Dari hasil penelitian pada konsentrasi terendah 25% terbentuk diameter 22 mm, pada konsentrasi 50% diameter 23 mm, pada konsentrasi 75% diameter 24 mm, sedangkan pada konsentrasi tertinggi 100% panjang diameter 25 mm. Pada kontrol positif memiliki diameter zona hambat 25 mm, kontrol

positif ini menggunakan antibiotik chloroampenicol dan pada kontrol negatif tidak ada daya hambat karena hanya menggunakan aquadest.

Menurut James (2002), kandungan minyak atsiri yang terdiri atas fenol dan beberapa komponen seperti hidrosikavikol, kavikol, kavibetol, estraditol, eugenol, metal-eugenol, karvakrol, terpenden, sekuiterpena, feniln, propane, tannin, gula dan pati. Menurut Wulan Noventi dan Novia Carolia (2016), Efek dari daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dikarenakan kandungan minyak atsiri yang komponennya yang berkhasiat sebagai antibakteri. Minyak atsiri dalam kandungan daun sirih hijau yang komponennya berkhasiat sebagai antibakteri hal ini dapat dimanfaatkan baik sebagai antibakteri untuk mencegah penyakit diare. Daun sirih memiliki cukup banyak kandungan air, protein, karbohidrat, serat, minyak esensial, dan alkholid. Daun sirih hijau juga mengandung beberapa vitamin seperti Vitamin C, asam nikotinik, Vitamin A, thiamine, riboflavin dan juga mineral yang terdiri atas kalsium, besi, iodin, fosfor, dan potassium.

Menurut peneliti, adanya kandungan minyak atsiri, *Alkholoid*, *Tannin*, *Flavonoid* daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang mampu menghambat pertumbuhan aktivasi bakteri. Kandungan *Alkaloid* yang dapat merusak komponen penyusun lapisan peptidoglikan, *Tannin* yang bersifat bakteriostatik, dan *Flavanoid* dapat mendenaturasi sel dan melisiskan sel.

Pada penelitian ini ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang diperoleh dengan pelarut ethanol mempunyai aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri gram positif dan gram negatif salah satunya bakteri *Escherichia coli*.



BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

6.2 Saran

1. Bagi Penelitian Selanjutnya

Bagi peneliti selanjutnya agar dapat memakai metode yang berbeda.

2. Institusi Pendidikan (STIKes ICME Jombang)

Bagi institusi pendidikan, khususnya bagi jurusan DIII Analis kesehatan STIKes ICME Jombang agar lebih meningkatkan pengetahuan tentang daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

3. Bagi Masyarakat

Bagi masyarakat bisa memanfaatkan daun sirih hijau (*Piper betle L.*) sebagai alternatif anti bakteri khususnya bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA


- A.Duke, James. *Handbook of medicinal herbs, second edition*. London :CRC Press. 2002. Hal 73
- Berg, Howard C. 2004. *Escherichia coli In Motion, Biological,ans Medical Physics BioMedical Engineering*. New York : Spinger Verlag AIP Press
- Bonang G. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.1982
- Brooks GF, Butel JS, Carrol KC, Morse SA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's. *Medical Microbiology*. 24th Ed. USA : Mc Graw Hill. 2007
- Brooks, G. F.,Butel, J.S.,& Morse, S.A. 2008. *Jawetz, Melnick, & Adelberg Microbiologi Kedokteran Terjemahan Edisi Ke-23*, Jakarta : EGC
- Departemen Kesehatan RI. 2011. *Buku Saku Petugas Kesehatan*
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S.& Williamson, E. M.,2009 *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta : EGC
- Jawetz, Melnick and Aldeberg. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz*. Edisi 23. Jakarta : EGC.2007
- Jawetz, Melnick, Adelberg, 2010. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, Adelberg 25th ed.*, Jakarta, Indonesia : EGC
- Kunkel D. 2009. *Eshcerichia coli*. <http://www.astrigrapich.com>
- Kusuma, S.A.F. 2010. *Escherichia coli*, Bandung : Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran
- Marliyana, S.D., handayani, N., Ngaisah, S.& Setyowati, E.N., 2013 *Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah*. *Jurnal Penerbit Kimia*, 9(2): 33-45
- Moeljanto, D.R. dr dan Mulyono. 2003. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih*. Bandung : Agromedia Pustaka
- Nadhila, N. F. (2014). *THE ACTIVITY OF ANTIBAKTERICAL AGENT OF HONEY AGAINST Staphylococcus aureus*. *J Majority*, 3(7), 94-101.
- Notoatmodjo, Soekidjo. 2010 *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta Jakarta

- Notoatmodjo, 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta
- Nursalam, 2011. *Konsep dan Penerapan Metodologi Penelitian*. Jakarta: Salemba Medika
- Nursalam, 2013. *Konsep dan Penerapan Metodologi Penelitian*. Salemba Medika. Jakarta
- Noventi, W dan Carolia, N. 2016. *Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Sebagai Alternatif Terapi Acne Vulgaris*. Skripsi. Universitas Lampung
- Pratiwi, S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Penerbit Erlangga, Jakarta, pp. 180
- Putri, Z. F. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau Terhadap Propionobacterium acne dan Staphylococcus Aureus Multiresisten*. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta : Surakarta
- Saryono, 2011. *Metodologi Penelitian Kesehatan: Penuntun Praktis Bagi Pemula*
- Segeren & Djuffrie, dkk. (2005). Faktor Resiko Kejadian Hipernatremia Pada Anak Balita Dengan Diare Cair Akut. *Jurnal Berkala Ilmu Kedokteran* ISSN, Vol.37, No.4, 2005: 198-203. Yogyakarta: Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Gajah Mada
- Syahrurachman, et al. 2014. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Revisi ed.* Jakarta : Bina Rupa Publisher
- Syukur C. dan Hernani. 1999. *Budidaya Tanaman Obat Tradisional*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya
- Songer JG, Post KW. 2005. *Vetenary Microbiologi. Bacterial and Fungal Agent of Animal Disease*. USA: Elsevier Saunders
- Triarsari, D. 2005. *Daun Sirih Mengobati Mimisan Sampai Keputihan*. www.Google.com
- Wibowo, T. 2004. Faktor-faktor Resiko Kejadian Diare Berdarah pada Balita di Kabupaten Sleman. *Jurnal. Berita Kedokteran Masyarakat*
- World Health Organization (WHO), 2014. Infection Disease http://www.who.int/topics/infection_disease/en/Diakses_tanggal_11_November_2014
- Zubir. 2006. Zubir, Juffrie, M., dan Wibowo, T., 2006. "Faktor-Faktor Kejadian Diare Akut pada Anak 0-35 Bulan (BATITA) di Kabupaten Bantul". *Sains Kesehatan* . Vol 19. No 3. Juli 2006. ISSN 1411-6197 :319.332

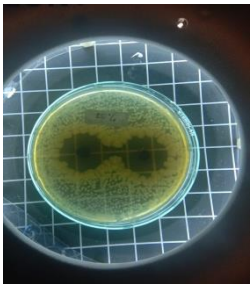
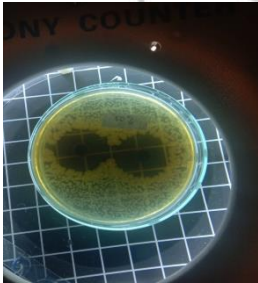
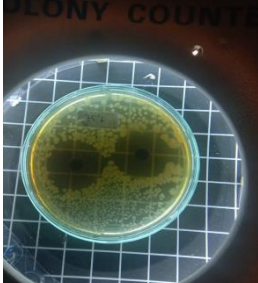
LAMPIRAN

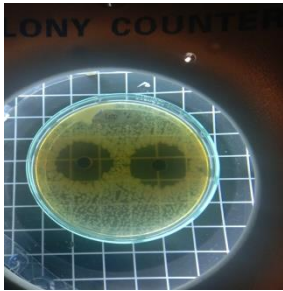
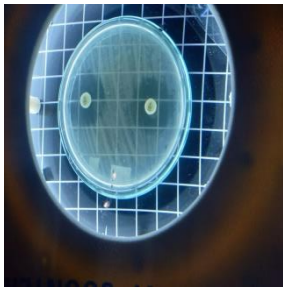
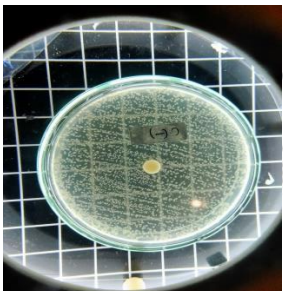
Lampiran 1

| No. | Gambar | Keterangan |
|-----|---|---|
| 1. |  | Memetik daun sirih hijau (<i>Piper betle L.</i>) |
| 2. |  | Daun sirih hijau (<i>Piper betle L.</i>) dipotong kecil-kecil dan dikeringkan |
| 3. |  | Menimbang daun sirih hijau yang sudah dikeringkan |
| 4. |  | Maserasi menggunakan ethanol 96% |
| 5. |  | Memanaskan ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle L.</i>) |

| | | |
|----|---|-----------------|
| 6. |  | Menanam bakteri |
|----|---|-----------------|

Lampiran 2

| | | |
|----|---|-----------------|
| 1. |  | Konsentrasi 25% |
| 2. |  | Konsentrasi 50% |
| 3. |  | Konsentrasi 75% |

| | | |
|----|--|------------------|
| 4. |  | Konsentrasi 100% |
| 5. |  | Kontrol positif |
| 6. |  | Kontrol negative |

