

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN SIRIH HUTAN
(*Piper aduncum* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* DAN
JAMUR *Candida albicans* MENGGUNAKAN EKSTRAKSI
ULTRASONIC DENGAN PELARUT BERTINGKAT**

SKRIPSI

**Oleh:
ZAHRIANI
066119178**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN SIRIH HUTAN
(*Piper aduncum* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* DAN
JAMUR *Candida albicans* MENGGUNAKAN EKSTRAKSI
ULTRASONIC DENGAN PELARUT BERTINGKAT**

SKRIPSI

**Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pada Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan**

**Oleh:
ZAHRIANI
066119178**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : **UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* DAN JAMUR *Candida albicans* MENGGUNAKAN EKSTRAKSI ULTRASONIC DENGAN PELARUT BERTINGKAT**

Nama : **Zahriani**

NPM : **066119173**

Program Studi : **Farmasi**

Skripsi ini telah disetujui dan disahkan
Bogor, 03 Agustus 2023

Menyetujui,

Pembimbing Pendamping



apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Prasetyorini, M.S.

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.

Dekan FMIPA - UNPAK



Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapat gelar sarjana di perguruan tinggi atau Lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila dikemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, Agustus 2023

Zahriani

SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Zahriani

NPM : 066119178

Program Studi : Farmasi

Judul Tugas Akhir : UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* dan JAMUR *Candida albicans* MENGGUNAKAN EKSTRAKSI ULTRASONIC DENGAN PELARUT BERTINGKAT

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi di atas adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal ataupun dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain yang telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian Skripsi ini. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Agustus 2023

Zahriani

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismilahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirobbil`alamin, segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat belajar di bangku perkuliahan program studi Farmasi hingga menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat beriring salam selalu terlimpahkan kepada Nabi Muhammad Shalallahu Alaihi Wassalam. Karya tulis sederhana ini saya persembahkan kepada:

1. **Allah SWT** yang telah memberikan nikmat kesehatan, kekuatan serta kemudahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. **Nabi Muhammad SAW** manusia terbaik yang paling mulia dan penuh dengan ketaatan, kekasihnya Allah SWT, dan panutan kami selaku umat muslim yang telah memberikan tauladan terbaik kepada seluruh umatnya.
3. **Kedua Orang Tuaku** tercinta dan tersayang Bapak Rusli dan Ibu Rusrita, terimakasih yang tak terhingga karena telah mendidik dan membesarkanku dengan penuh kelembutan dan kasih sayang, serta selalu mendukung disetiap langkahku. Terimakasih atas dukungan moril dan materi dan doa-doa terbaik kalian yang tak pernah putus untukku. Terimakasih juga untuk **saudara kembarku** Zahriana, kak Ina, abang Iqbal, Iqrom dan seluruh **keluargaku** tersayang yang selalu memberikan **dukungannya untukku**.
4. **Ibu Dosen Pembimbing**, ibu Prof. Dr. Prasetyorini, MS dan ibu apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M. Farm, terimakasih telah meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing dan mengarahkan saya sehingga penulisan skripsi ini menjadi lebih baik. Terimakasih telah memberikan ilmunya dengan tulus dan ikhlas hingga skripsi ini terselesaikan.
5. **Teman-temanku** Zaza geng (amel, jul, lydia, umi, awa, cia, melisa, anju, anya, mba meisi, hikmah, gena, sunu) yang sudah seperti keluarga. Terimakasih sudah hadir dalam kehidupanku menemani, mendukung dan mewarnai setiap aktivitasku dengan penuh canda, tawa, tangis, keluh dan kesah yang kita lewati selama ini. Terimakasih sudah menjadi support sistem terbaik dan menjadi salah satu alasanku betah hidup di kota Bogor. Terimakasih juga teman-teman

Farmasi EF angkatan 2019 yang telah mewarnai bangku perkuliahan selama menempuh jenjang S1 Farmasi.

6. **Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA** dan seluruh anggotanya, terimakasih telah menjadi wadah untuk saya belajar mengenai banyak hal dalam berorganisasi dan memberikan saya banyak pengalaman baru.
7. **Zahrani**, Last but not least, i wanna thank me, i wanna thank me for believing me, i wanna thank me for doing all this hard work. Terimakasih sudah kuat melalui berbagai tahap yang tidak mudah ini, mulai dari masuk kuliah, penelitian, revisi skripsi dan sidang-sidang yang dijalankan hingga akhirnya dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk diri saya sendiri dan untuk orang yang membacanya menjadi referensi untuk pengembangan kearah yang lebih baik.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Zahriani, lahir pada 02 April 2002 di Baturaja, Sumatera Selatan, dan memiliki saudara kembar bernama Zahriana. Penulis merupakan anak keempat dari pasangan Bapak Rusli dan Ibu Rusrita. Penulis memulai Pendidikan formalnya pada tahun 2006 di TK Pertiwi Muaradua dan lulus pada tahun 2007, kemudian melanjutkan Pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 05 Muaradua dan lulus pada tahun 2013.

Penulis melanjutkan Pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 01 Muaradua dan lulus pada tahun 2016 dan menyelesaikan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 01 Muaradua pada tahun 2019. Pada tahun 2019 penulis melanjutkan Pendidikan tingkat sarjana di Program Studi Farmasi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor. Selama menjadi mahasiswa di perguruan tinggi penulis pernah menjadi asisten dosen praktikum untuk matakuliah Biokimia dan pernah menjadi Ketua Departemen Seni Budaya dan Olahraga di Organisasi BEM FMIPA Universitas Pakuan. Penulis berhasil menyelesaikan penelitian berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* dan JAMUR *Candida albicans* MENGGUNAKAN EKSTRAKSI ULTRASONIC DENGAN PELARUT BERTINGKAT” Pada bulan maret-juni 2023 serta dinyatakan lulus dan memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) pada tanggal 3 Agustus 2023.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT karena atas berkat dan limpahan rahmat serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Dan Jamur *Candida albicans* Menggunakan Ekstraksi *Ultrasonic* Dengan Pelarut Bertingkat”**. Skripsi ini diajukan guna memenuhi salah satu syarat tugas akhir untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi dari Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor. Penulis mengucapkan terimakasih banyak atas bimbingan, bantuan dan bantuan dari berbagai pihak, antara lain:

1. Prof. Dr. Prasetyorini, M.S., sebagai pembimbing I dan apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M. Farm., sebagai pembimbing II.
2. Dekan dan Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
3. Seluruh staf dosen dan karyawan di lingkungan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.
4. Kedua orang tua, serta keluarga yang telah memberikan banyak dukungan moral, materi, motivasi dan doa.
5. Teman-teman mahasiswa-mahasiswi farmasi 2019 yang selalu memberi semangat dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa hasil penelitian ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kata sempurna, oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun dari pembaca.

Bogor, Agustus 2023

Penulis

RINGKASAN

ZAHRIANI. 066119178. 2023. UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* DAN JAMUR *Candida albicans* MENGGUNAKAN EKSTRAKSI *ULTRASONIC* DENGAN PELARUT BERTINGKAT. Di bawah bimbingan Prasetyorini dan Ike Yulia Wiendarlina

Mikroorganisme dapat menyebabkan timbulnya penyakit infeksi, diantaranya dapat disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* yang sering ditemukan dapat menyebabkan infeksi karies gigi dengan prevalensi lebih dari 80%. Selain itu, penyakit infeksi yang sering terjadi disebabkan oleh jamur, terdapat 30-50% orang mengalami penyakit kandidiasis oral akibat infeksi mukosa oral yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. Pemanfaatan bahan alam bisa menjadi alternatif lain sebagai antimikroba. Berdasarkan penelitian sebelumnya daun sirih digunakan untuk obat kumur, antiseptik juga sebagai zat antimikroba.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) menggunakan ekstraksi *Ultrasonic Assisted Extraction* bertingkat dengan pelarut yang berbeda jenis kepolaran terhadap bakteri *S. mutans* dan jamur *C. albicans*, dengan metode dilusi padat untuk penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan metode difusi cakram untuk Lebar Daerah Hambat (LDH).

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu KHM terhadap bakteri *S. mutans* pada ekstrak n-heksan konsentrasi 5%, pada ekstrak etil asetat dan etanol 96% konsentrasi 10%. KHM terhadap jamur *C. albicans* pada ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% konsentrasi 25%. Hasil uji antimikroba berdasarkan nilai LDH ekstrak etanol 96% daun sirih hutan pada konsentrasi 30% yang paling efektif sebagai antibakteri dalam menghambat bakteri *S. mutans* dengan rata-rata nilai LDH hambat 7,78 mm, sedangkan ekstrak etanol 96% daun sirih hutan pada konsentasi 45% adalah yang paling efektif sebagai antijamur dalam menghambat jamur *C. albicans* dengan rata-rata nilai LDH 7,55 mm.

Kata Kunci : Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.), Antimikroba, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*

SUMMARY

TEST OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FOREST BETEL LEAF EXTRACT (*Piper aduncum* L.) AGAINST *Streptococcus mutans* AND *Candida albicans* USING ULTRASONIC EXTRACTION WITH SOLVENTS. **Supervisor of Prasetyorini and Ike Yulia Wiendarlina**

Microorganisms can cause infectious diseases, some of them can be caused by the *Streptococcus mutans* bacteria which is often found to cause dental caries infections with a prevalence of more than 80%. In addition, infectious diseases that often occur are caused by fungi, there are 30-50% of people who experience oral candidiasis due to infection of the oral mucosa caused by the fungus *Candida albicans*. Utilization of natural materials can be another alternative as an antimicrobial. Based on previous research, betel leaf is used for mouthwash, antiseptic as well as antimicrobial.

This study aims to determine the antimicrobial activity of forest betel leaf extract (*Piper aduncum* L.) using multilevel UAE Extraction with different types of polarity solvents against *S. mutans* bacteria and *C. albicans* fungi, using a solid dilution method for the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the disc diffusion method for the Width of Inhibitory Zone (IZ).

The results in this study were MIC against *S. mutans* bacteria in n-hexane extract with a concentration of 5%, in ethyl acetate and ethanol 96% extract with a concentration of 10%. MIC against *C. albicans* in n-hexane extract, ethyl acetate and 96% ethanol with a concentration of 25%. Antimicrobial test results based on the inhibition zone of forest betel leaf n-hexane extract at a concentration of 25% were most effective as an antibacterial in inhibiting *S. mutans* bacteria with an average inhibition zone of 7.69 mm, while the 96% ethanol extract of forest betel leaves at a concentration of 45% was the most effective as an antifungal in inhibiting *C. albicans* with an average inhibition zone of 7.55 mm.

Keywords : Forest Betel Leaf (*Piper aduncum* L.), Antimicrobial, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.i
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
RIWAYAT HIDUP	viError! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR.....	viii
RINGKASAN	iv
SUMMARY	iv
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Percobaan	4
1.3 Hipotesis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Sirih Hutan (<i>Piper aduncum</i> L.)	5
2.2 Kandungan Kimia Sirih Hutan	6
2.3 Manfaat dan Khasiat Sirih Hutan	7
2.4 Ekstraksi	7
2.5 <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> (UAE)	8
2.6 Pelarut.....	9
2.6.1 Etanol	10
2.6.2 n-heksana.....	10
2.6.3 Etil asetat.....	11
2.7 Mikroorganisme.....	11
2.7.1 Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	12
2.7.2 Jamur <i>Candida albicans</i>	13

2.8	Antimikroba.....	14
2.8.1	Antibakteri.....	14
2.8.2	Antijamur	15
2.9	Metode Pengujian Antimikroba.....	16
2.9.1	Metode Difusi	16
2.9.2	Metode Dilusi.....	18
BAB III METODE PENELITIAN		19
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2	Alat dan Bahan	19
3.2.1	Alat.....	19
3.2.2	Bahan.....	19
3.3	Metode Penelitian	20
3.3.1	Pengambilan Bahan Baku dan Determinasi.....	20
3.3.2	Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sirih Hutan	20
3.3.3	Karakteristik Simplisia.....	20
3.3.4	Penentuan Kadar Air	20
3.3.5	Penentuan Kadar Abu	21
3.3.6	Pembuatan Ekstrak dengan <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>	21
3.3.7	Skrining Fitokimia	22
3.3.7.1	Uji Alkaloid	22
3.3.7.2	Uji Flavonoid.....	23
3.3.7.3	Uji Tanin.....	23
3.3.7.4	Uji Saponin	23
3.3.7.5	Uji Steroid dan Terpenoid	23
3.3.8	Pengujian Mikrobiologi	23
3.3.8.1	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	23
3.3.8.2	Pembuatan Media Agar	24
3.3.8.3	Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (<i>McFarland</i>)	24
3.3.8.4	Peremajaan Bakteri dan Jamur	24
3.3.8.5	Pembuatan Suspensi Bakteri dan Jamur	25
3.3.8.6	Preparasi Kertas Cakram	25

3.3.9	Pembuatan Larutan Uji dan Perbandingan.....	25
3.3.9.1	Larutan Uji.....	25
3.3.9.2	Larutan Perbandingan.....	26
3.3.10	Pengujian Aktivitas Antibakteri dan Antijamur.....	26
3.3.10.1	Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ...	26
3.3.10.2	Pengujian Lebar Daya Hambat (LDH).....	27
3.3.11	Parameter Penelitian.....	28
3.3.12	Analisis Data	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		30
4.1	Hasil Determinasi Tanaman	30
4.2	Hasil pembuatan Simplisia Serbuk Daun Sirih Hutan.....	30
4.3	Hasil Pembuatan Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Etanol Daun Sirih Hutan	31
4.4	Hasil Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih Hutan	33
4.5	Hasil Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih hutan.....	35
4.6	Hasil Uji Antimikroba Terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i> dan jamur <i>Candida albicans</i>	37
4.6.1	Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	37
4.6.2	Hasil Pengujian Lebar Daerah Hambat (LDH).....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		49
5.1	Kesimpulan.....	49
5.2	Saran	49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN.....		58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Sirih Hutan (<i>Piper aduncum</i> L.)	5
2. Alat <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>	9
3. Struktur 3D Etanol.....	10
4. Struktur 3D n-Heksana.....	11
5. Struktur 3D Etil Asetat	11
6. Scanning Electron Microscopic <i>Streptococcus mutans</i>	13
7. Scanning Electron Microscopic <i>Candida albicans</i>	14
8. Struktur Kimia Amoksisilin	15
9. Struktur Kimia Nistatin	16
10. Posisi Kertas Cakram Uji Pada Uji LDH	28
11. Serbuk Simplisia Daun Sirih Hutan.	31
12. Ekstrak Kental Daun Sirih Hutan.....	32
13. Hasil Uji KHM Ekstrak n-Heksan Daun Sirih Hutan Terhadap Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	37
14. Hasil Uji KHM Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Hutan Terhadap Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	38
15. Hasil Uji KHM Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hutan Terhadap Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	38
16. Hasil Uji KHM Ekstrak n-Heksan Daun Sirih Hutan Terhadap Jamur <i>Candida albicans</i>	38
17. Hasil Uji KHM Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Hutan Terhadap Jamur <i>Candida albicans</i>	39
18. Hasil Uji KHM Ekstrak Etanol Daun Sirih Hutan Terhadap Jamur <i>Candida albicans</i>	39
19. Hasil Uji LDH Terhadap Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	40
20. Hasil Uji LDH Terhadap Jamur <i>Candida albicans</i>	41

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kategori Zona Hambat Terhadap Bakteri	17
2. Kategori Zona Hambat Terhadap Jamur	17
3. Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Hutan	27
4. Hasil Karakteristik Ekstrak	33
5. Kadar Air dan Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih Hutan	35
6. Hasil Pengujian Fitokimia	36
7. Hasil Pengukuran LDH Terhadap <i>S. mutans</i>	42
8. Hasil Pengukuran LDH Terhadap <i>C. albicans</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alur Penelitian.....	59
2. Hasil Determinasi Daun Sirih Hutan (<i>Piper aduncum</i> L.)	60
3. Surat Pernyataan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	61
4. Surat Pernyataan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	62
5. Perhitungan Rendemen Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih Hutan	63
6. Perhitungan Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sirih Hutan.....	65
7. Perhitungan Kadar Air Ekstrak n-Heksana, Etil asetat, Etanol Daun Sirih Hutan.....	66
8. Perhitungan Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sirih Hutan	69
9. Perhitungan Kadar Abu Ekstrak n-Heksana, Etil asetat, Etanol Daun Sirih Hutan.....	70
10. Pembuatan Larutan Uji dan Larutan Kontrol	73
11. Perhitungan Hasil Lebar Daerah Hambat Ekstrak Terhadap Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	76
12. Perhitungan Hasil Lebar Daerah Hambat Ekstrak Terhadap Jamur <i>Candida albicans</i>	79
13. Hasil Uji Analisis Data Statistik <i>Streptococcus mutans</i>	82
14. Hasil Uji Analisis Data Statistik <i>Candida albicans</i>	85

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Organisme hidup yang berukuran sangat kecil disebut mikroorganisme yang terdiri dari bakteri, jamur, virus, protozoa dan algae yang keberadaannya sangat banyak. Mikroorganisme dapat menyebabkan timbulnya penyakit infeksi yang merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang masuk dan berkembang biak didalam tubuh, diantaranya disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans* (Jawetz *et al.*, 1995). Bakteri *S. mutans* merupakan bakteri penyebab awal proses karies gigi yang banyak ditemukan di rongga mulut (Angela, 2005). Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi yang cukup tinggi di Indonesia dengan prevalensi lebih dari 80% (Fatimatuzzahro dkk, 2016). Penyakit infeksi mikroorganisme selain bakteri bisa disebabkan oleh jamur yaitu penyakit kandidiasis oral yang merupakan salah satu infeksi mukosa oral dengan penyebab tertinggi disebabkan oleh jamur *C. albicans* dengan prevalensi 30-50% (Hakim dkk, 2015). *C. albicans* adalah mikro flora normal yang sering ditemukan pada kulit, rongga mulut, selaput mukosa saluran pernafasan, vagina, dibawah kuku, namun jika terjadi perubahan fisiologi atau penurunan kekebalan tubuh maka *C. albicans* akan bersifat patogen, timbulah infeksi yang disebut dengan kandidiasis (Inge, 2008). Berbagai cara yang dilakukan untuk mencegah dan mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur, salah satunya dengan penggunaan antibiotik.

Antibiotik merupakan obat yang digunakan untuk mengobati infeksi bakteri dan jamur, jika penggunaan tidak tepat bahkan berlebihan dan dalam jangka waktu panjang menyebabkan terjadinya resistensi. Resistensi antibiotik mengakibatkan tubuh akan kebal terhadap infeksi bakteri dan jamur dengan jenis yang sama (Andiarna, 2020). Masalah tersebut menyebabkan diperlukan upaya pengobatan alternatif yang lebih aman, tidak menimbulkan efek samping atau efek samping yang ditimbulkan kecil yang dapat membunuh bakteri dan jamur serta untuk menghindari terjadinya resistensi, dengan menggunakan pemanfaatan tanaman obat

yang berasal dari alam dan memiliki sifat sebagai antimikroba.

Tumbuhan yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional dan memiliki senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik salah satunya adalah tanaman yang tergolong kedalam famili *piperaceae* atau sirih-sirihan. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, daun sirih berfungsi untuk mengobati sariawan dan sering digunakan untuk obat kumur, antiseptik, juga sebagai zat antimikroba (Zuraidah, 2015). Jenis/spesies tanaman sirih-sirihan diantaranya yaitu terdapat tanaman sirih hutan (*Piper aduncum* L.). Tanaman sirih hutan sendiri masih sangat jarang dimanfaatkan dibandingkan dengan jenis sirih yang lainnya seperti sirih hijau, sirih merah dan lainnya. Hasil pengujian fitokimia pada penelitian Safriana dkk (2019) menunjukkan bahwa daun sirih hutan mengandung beberapa senyawa aktif yang bersifat antibakteri antara lain flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Orjala dalam safriana dkk (2019) mengatakan bahwa ekstrak daun sirih hutan memperlihatkan aktivitas yang signifikan sebagai antibakteri melawan *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* dan *E. coli*.

Berdasarkan penelitian Hallianah dkk (2019) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hutan hasil ekstraksi maserasi pada konsentrasi 60% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat yaitu 14 mm, sedangkan pada konsentrasi 10% didapatkan zona hambat yaitu 11,3 mm pada bakteri *S. aureus* dan 12 mm pada bakteri *E. coli*, hal ini menunjukkan ekstrak daun sirih hutan memiliki sifat bakteriostatik yaitu kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian Safriana dkk (2019) Ekstrak daun sirih hutan metode maserasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.mutans* pada konsentrasi 30% dengan zona hambat yaitu 11,2 mm dan konsentrasi yang efektif sebesar 75% dengan zona hambat yaitu 13,1 mm. Khasiat daun sirih hutan sebagai antijamur juga dibuktikan pada penelitian Gunawan dkk (2015) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hutan hasil ekstraksi maserasi pada konsentrasi 80% dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* dengan nilai rata-rata diameter zona bening yang terbentuk sebesar 13,01 mm.

Daun sirih hutan pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi dengan menggunakan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) karena metode ini relatif baru

dan memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan metode konvensional. Vinatoru dalam Hendryani (2015) menyimpulkan bahwa metode konvensional memerlukan waktu ekstraksi yang lama, suhu yang tinggi, dan energi yang dibutuhkan besar sedangkan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) merupakan alternatif metode ekstraksi yang efektif dan efisien, rendah energi, waktu ekstraksi lebih cepat serta rendemen yang dihasilkan lebih tinggi. Penelitian Kanifah dkk (2015) menyebutkan bahwa ultrasonik memiliki kemampuan yang lebih cepat dan lebih sempurna dibandingkan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi yaitu dapat meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding sel sehingga meningkatkan jumlah komponen sel yang berdifusi ke dalam pelarut.

Ekstraksi UAE dilakukan modifikasi dengan menggunakan dua atau lebih pelarut yang berbeda kepolarannya akan menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan. Penggunaan tiga jenis pelarut dikarenakan senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan sirih tidak seluruhnya merupakan senyawa polar, namun juga terdapat senyawa yang bersifat nonpolar ataupun semi polar dan bersifat lipofil (Kursia dkk, 2016), sehingga untuk mengoptimalkan senyawa yang terkandung didalam ekstrak daun sirih hutan. Menurut Santoso (2012) penggunaan tiga jenis pelarut dalam ekstraksi dengan tingkatan kepolaran yang berbeda yaitu etanol (polar), etil asetat (semi polar), dan n-heksana (nonpolar) dapat mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktif. Hasil tersebut disebabkan karena perbedaan polaritas dari pelarut (Megha *et al.*, 2014). Pelarut etanol, etil asetat dan n-heksan dipilih karena merupakan pelarut organik yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi, yang dapat melarutkan senyawa flavonoid, saponin, aglikon flavonoid, steroid dan lainnya (Kursia dkk, 2016).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antibakteri dan antijamur ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dari hasil ekstraksi *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan perbedaan pelarut untuk mendapatkan hasil yang efektif terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan jamur *C. albicans*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai alternatif antimikroba lain yang dapat digunakan untuk menangani masalah infeksi.

1.2 Tujuan Percobaan

1. Menentukan aktivitas antimikroba ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 96% daun sirih hutan terhadap *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans* dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction*.
2. Mendapatkan jenis pelarut terbaik dengan konsentrasi yang paling efektif pada ekstrak daun sirih hutan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*.

1.3 Hipotesis

1. Ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 96% daun sirih hutan memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan antijamur terhadap *Candida albicans*.
2. Terdapat pelarut dengan konsentrasi terbaik dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 96% daun sirih hutan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*

BAB II **TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Tanaman Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

Tanaman sirih hutan atau di Indonesia dikenal juga dengan nama sirihan adalah tanaman yang berasal dari Amerika Selatan yang tersebar di berbagai wilayah dunia dan diperkenalkan di Indonesia pada tahun 1860. Sirih hutan merupakan tumbuhan tropis yang tumbuh liar di hutan atau di lahan bero. Tumbuhan ini tidak memanjat seperti jenis tanaman sirih yang lainnya. Semua bagian tanaman berasa dan berbau pedas seperti lada dan sirih (Evizal, 2013). Klasifikasi tumbuhan sirih hutan menurut Tjitrosoepomo (1993) adalah sebagai berikut: Famili *Piperaceae*, Genus *Piper* dan Species *Piper aduncum* L.



Gambar 1. Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

Tanaman sirih hutan berupa semak atau pohon kecil, tinggi hingga 7 m dan diameter batang 10 cm atau lebih (Setyawati dkk, 2015) berwarna hijau tua dan rasanya tidak begitu tajam. Batangnya berkayu, bulat telur, ujung runcing, pangkal membulat, tangkai berbulu halus, silindris 5-10 mm, panjang daun 10-14 cm, lebar 5-6 cm, pertulangan menjari, warna hijau muda. Bunganya majemuk, bentuk bulir, berkelamin satu atau dua, daun pelindung bertangkai 0,5-1,25 mm, melengkung, tangkai benang sari pendek, kepala sari kecil, bakal buah duduk, kepala putik dua sampai tiga, pendek, putih, putih kekuningan. Buah berupa buah buni, bertangkai pendek, panjang bulir 12-14 cm, masih muda kuning kehijauan, setelah tua hijau, dengan biji berukuran kecil dan berwarna coklat. Akarnya tunggang berwarna putih

kecoklatan (Syamsuhidayat & Hutapea, 1991). Habitatnya daerah pertanian atau perkebunan, hutan alam, pedesaan (Setyawati dkk, 2015).

2.2 Kandungan Kimia Sirih Hutan

Sirih hutan kaya akan senyawa metabolit sekunder, yang termasuk dalam golongan alkaloid, tanin, flavonoid, kuinon, flavanon, flavon, kromena, fenilpropanoid, monoterpena, seskuiterpena, steroid, dan benzenoid. Sirih hutan juga mengandung senyawa-senyawa seperti heksana, sianida, saponin, tanin, flavonoid, steroid, alkaloid, dan minyak atsiri yang dapat berfungsi sebagai insektisida atau pestisida nabati (Aminah, 1995; Ismed dkk, 2016). Daun tumbuhan sirih hutan dilaporkan mengandung alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, polifenol, steroid dan terpenoid (Nova, 2016), sedangkan buahnya mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, triterpenoid, steroid, kumarin dan dillapiole (Arneti, 2012). Secara spesifik daun sirih hutan mengandung flavonoida, saponin, polifenol, minyak atsiri, dihydrochalcone, piperaduncin A, B, dan C, serta 2',6'-dihidroksi-4'-metoksidihidrokhalkon (DMC) dan 2',6',4-trihidroksi-4'-metoksidihidrokhalkon (asebogenin) (Orjala, 2004). Minyak essential dari hasil ekstraksi terhadap daun sirih hutan mengandung 23 senyawa (monoterpen; 90,4% dan seskuiterpen 7,0%) dengan komponen utama adalah senyawa 1,8-cineole (53,9%) (Oliviera, 2013).

Tanaman sirih mengandung zat-zat antimikroba berupa minyak atsiri, fenil propane, klavikol, flavonoid, tannin dan senyawa terpenoid yaitu monoterpen dan seskuiterpen yang dapat menghambat pertumbuhan jamur (Zuraidah, 2021). Daun sirih hutan mengandung beberapa golongan senyawa aktif seperti flavonoida, tanin, saponin dan alkaloid yang bersifat sebagai antibakteri (Safriana dkk, 2019). Flavonoid dan tanin secara umum merupakan senyawa polifenol, senyawa fenol bersifat dapat merusak membran sehingga dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri (Safriana dkk, 2019). Saponin sebagai antibakteri bekerja dengan cara merusak porin yang merupakan pintu masuk keluarnya senyawa yang akan mengakibatkan sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat atau mati (Darsana dkk, 2012; Hallianah dkk, 2019). Alkaloid mempunyai mekanisme kerja

sebagai antibakteri yaitu dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel (Hallianah dkk, 2019). Senyawa kavikol dan kavibetol merupakan turunan dari fenol yang mempunyai daya antibakteri lima kali lipat dari fenol biasa (Harman, 2013).

2.3 Manfaat dan Khasiat Sirih Hutan

Daun sirih hutan mempunyai khasiat dalam penyembuhan luka, menghentikan muntah, mengurangi mual, melancarkan pencernaan, sebagai antiseptik, membunuh bakteri dan jamur serta virus (Sitinjak dkk, 2016). Daun dan akar sirih hutan digunakan untuk mengobati diare, disentri, muntaber, maag, dan juga dapat digunakan untuk mengontrol pendarahan. Minyak esensial dari spesies ini memiliki sifat antibakteri dan juga dapat digunakan sebagai insektisida dan moluskisida (Setyawati dkk, 2015).

Penelitian Gunawan (2015) Ekstrak daun sirih hutan konsentrasi 80% dapat mempengaruhi dan menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*. Safriana dkk (2019) dalam penelitiannya melaporkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hutan memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 30%, 45%, 60% dan 70% karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Ekstrak daun sirih hutan dengan dosis 25 mg/kgBB tikus, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB tikus memiliki kecenderungan manfaat untuk menurunkan kadar gula darah tikus Wistar yang diinduksi oleh aloksan (Sitinjak dkk, 2016). Sirih hutan juga dimanfaatkan sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* L. (Sudrajat dkk, 2011).

2.4 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DepKes RI, 2020).

Ekstraksi adalah suatu metode pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solvent) sebagai *separating agen* disebut juga ekstraksi sehingga ekstraksi pelarut menyangkut distribusi suatu zat terlarut diantara dua fase cair yang tidak saling bercampur (Sudjadi, 1998).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu metode ekstraksi konvensional dan ekstraksi modern. Metode konvensional seperti maserasi, perkolasi dan refluks, biasanya menggunakan pelarut organik, membutuhkan volume besar dan waktu ekstraksi yang lama. Ada beberapa metode ekstraksi modern seperti ekstraksi *Supercritical Fluid Extraction* (SFC), *Pressurized Liquid Extraction* (PLE), *Ultrasonic Assisted Extraction* dan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) telah diterapkan dalam ekstraksi produk alami dan metode ini menawarkan beberapa keuntungan seperti menggunakan pelarut organik yang lebih rendah, waktu ekstraksi lebih singkat dan selektivitas lebih tinggi (Zhang *et al.*, 2018).

2.5 *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)

Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) merupakan teknik ekstraksi dengan berbantu gelombang ultrasonik tanpa adanya pemanasan atau dengan pemanasan yang dapat mereduksi penggunaan pelarut dengan suhu dan penggunaan energi yang lebih rendah (Mukhriani, 2014). Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi diatas pendengaran manusia (≥ 20 kHz).

Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) merupakan metode ekstraksi yang menggunakan prinsip kavitasi akustik untuk memproduksi gelembung spontan (kavitasi) dalam fase cair dibawah titik didihnya dan akan merusak dinding sel sehingga pelarut dapat masuk ke dalam bahan. Metode UAE memiliki kelebihan dibandingkan metode ekstraksi maserasi yaitu dapat meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding sel, laju perpindahan massa lebih cepat, meningkatkan hasil ekstraksi, penggunaan suhu yang rendah, memberikan hasil ekstrak yang optimal

sehingga dapat mengefisien waktu dan pelarut yang digunakan (Kristina *et al.*, 2022).

Metode ini memiliki kelebihan yaitu memberikan hasil ekstrak yang optimal sehingga waktu dan pelarut yang digunakan lebih efisien. Gelombang ultrasonik merupakan metode ekstraksi *non thermal* sehingga dapat mengurangi konsumsi energi, dapat meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel dan meningkatkan transfer massa, serta hanya memerlukan waktu yang singkat sehingga lebih efisien. Ultrasonik merupakan alternatif metode ekstraksi yang efektif dan efisien, rendah energi, waktu dan material serta rendemen yang dihasilkan lebih tinggi (Vinatoru, 2001).



Gambar 2. Alat *Ultrasonic Assisted Extraction*

2.6 Pelarut

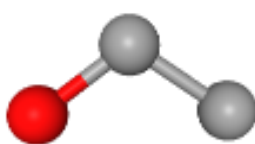
Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Penentuan jenis pelarut yang digunakan pada prosedur ekstraksi sangat mempengaruhi senyawa bioaktif dari bahan tumbuhan dan keberhasilan proses ekstraksi tersebut. Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu mudah menguap pada suhu yang rendah, toksisitas dari pelarut rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam ekstraksi karena jenis dan mutu dari pelarut akan tergantung pada senyawa yang ditargetkan.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut, potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari *et al.*, 2011). Proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut didasarkan pada sifat kepolarannya. Senyawa polar akan larut pada pelarut polar (air, etanol, methanol, dan butanol), senyawa non-polar akan larut pada pelarut non-polar (n-heksana, eter, kloroform) (Kasminah, 2016).

2.6.1 Etanol

Etanol (C_2H_5OH) merupakan pelarut polar mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Pelarut etanol dipertimbangkan untuk ekstraksi karena lebih selektif, kapang dan kuman kulit tidak dapat tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada skala perbandingan, diperlukan panas lebih sedikit (DepKes 1986). Etanol digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi karena lebih mudah untuk menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tumbuhan (Tiwari *et al.*, 2011), sangat baik untuk mendapatkan senyawa flavonoid dan fenolik (Hakim dan Saputri, 2020).

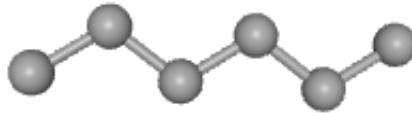


Gambar 3. Struktur 3D Etanol
Sumber : Pubchem (2023)

2.6.2 n-Heksana

Heksana (C_6H_{14}) secara luas digunakan sebagai pelarut nonpolar yang mudah menguap pada titik didih $69^{\circ}C$, berat molekul 86,2 gram/mol dengan titik leleh $-94,3$ sampai $-95,3^{\circ}C$. Pelarut n-heksana merupakan pelarut yang bersifat nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar, dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau

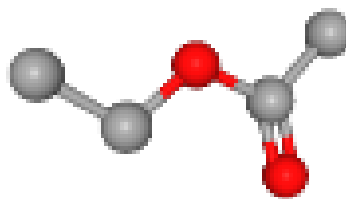
seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. n-Heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak, dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan korotenoid (Tiwari *et al.*, 2011).



Gambar 4. Struktur 3D n-Heksana
Sumber : Pubchem (2023)

2.6.3 Etil asetat

Etil asetat ($C_4H_8O_2$) merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah (USP 2007; Rowe *et al.*, 2009; Wardhani dan Sulistyani 2012). Pelarut etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon flavonoid dan dapat digunakan sebagai pelarut karena mampu menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, polifenol, dan triterpenoid (Putri dkk, 2013).



Gambar 5. Struktur 3D Etil Asetat
Sumber : Pubchem (2023)

2.7 Mikroorganisme

Organisme kecil dalam mikrobiologi disebut dengan istilah mikroorganisma, mikroorganisme, mikroba, protista atau jasad renik.

Mikroorganisme adalah organisme (makhluk) kecil yang tidak dapat dilihat dengan menggunakan mata telanjang tetapi harus dilihat dengan menggunakan mikroskop.

Mikrobiologi dalam Bahasa Yunani berasal dari 3 kata yaitu *micros* artinya kecil, *bios* artinya hidup, dan *logos* artinya ilmu. Dunia mikroorganisme terdiri dari lima kelompok organisme, yaitu bakteri, protozoa, virus, algae, dan cendawan mikroskopis atau jamur (Rahmawati, 2019).

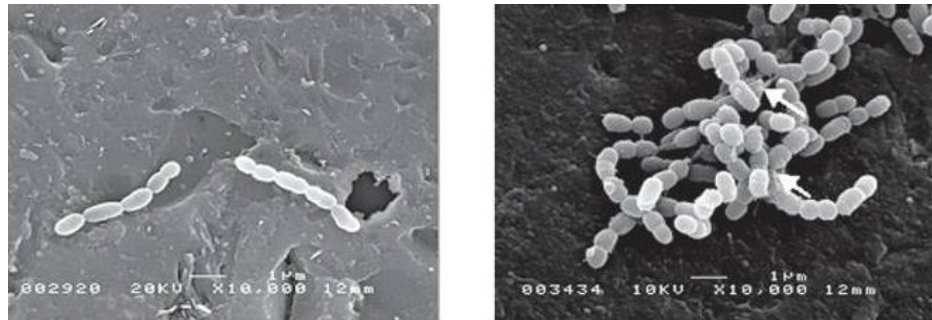
2.7.1 Bakteri *Streptococcus mutans*

Bakteri termasuk ke dalam kelompok organisme prokariotik, yakni sekelompok organisme yang tidak mempunyai selubung inti. Bakteri sebagai organisme hidup mempunyai sekumpulan informasi genetik yang berupa DNA dengan bentuk sirkuler, memanjang, dan biasa disebut nukleoid, meskipun DNA tidak terlokalisasi pada suatu tempat khusus yakni nukleus sebagaimana organisme hidup lainnya. Bakteri diklasifikasikan menjadi 2 kelompok besar yaitu Bakteri Gram negatif dan Bakteri Gram positif (Rahmawati, 2019).

Streptococcus adalah bakteri Gram positif yang hidup dengan membentuk rantai terdiri dari dua atau lebih sel individu, selnya berbentuk bola atau bulat telur dan bergaris tengah 0,5-1,0 μm . Bakteri ini bersifat nonmotil atau tidak bergerak dan termasuk bakteri anaerob fakultatif (Irianto, 2013). *S. mutans* merupakan flora normal pada mulut, faring, dan intestinum manusia (Forssten *et al.*, 2010). *S. mutans* hidup secara optimal pada suhu 18°C-40°C (Nugraha, 2011). Bakteri ini bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam asidurik, dapat hidup pada lingkungan asam dan menghasilkan satu polisakarida yang lengket yang disebut dengan dextran (Maksum, 2009).

Taksonomi *S. mutans* menurut Integrated Taxonomic Information System (2021) adalah sebagai berikut: Famili *Streptococcaceae*, Genus *Streptococcus* dan Species *Streptococcus mutans*. *S. mutans* merupakan salah satu penyebab utama karies gigi yang memiliki kemampuan melekat pada permukaan gigi, dapat menghasilkan asam dan dapat bertahan dalam kondisi asam (Chaiya *et al.*, 2013). Terbentuknya karies gigi berawal dari biofilm yang melekat di permukaan gigi. Biofilm adalah suatu lapisan tipis yang terdiri dari jutaan sel bakteri, polimer saliva

dan debris makanan yang jika tidak terkontrol, biofilm ini dapat menebal dengan ratusan sel pada permukaan gigi dan menjadi areal perlekatan bagi kolonisasi dan pertumbuhan berbagai spesies bakteri (Chaiya *et al.*, 2013).



Gambar 6. Scanning Electron Microscopic *Streptococcus mutans* perbesaran 10.000x

Sumber : Rahim and Thurairajah (2011)

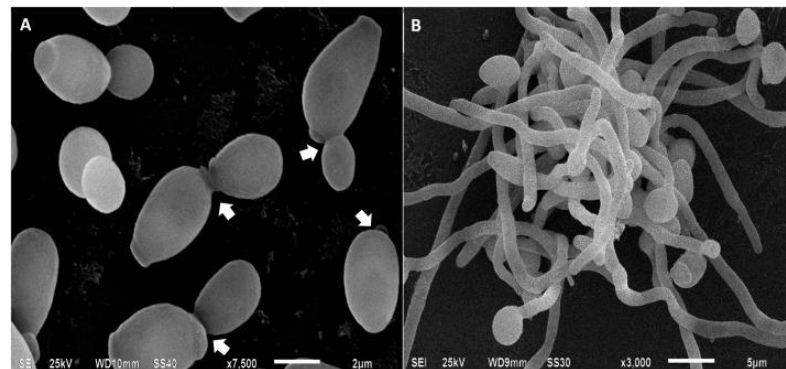
2.7.2 Jamur *Candida albicans*

Jamur atau fungi atau cendawan didefinisikan sebagai suatu jenis organisme eukariotik yang mempunyai inti sel dari organel-organel. Susunan jamur terdiri dari hifa yang berupa benang-benang panjang bersel tunggal. Kumpulan hifa pada jamur akan menumbuhkan cabang-cabang yang dapat membentuk sebuah jaring yang disebut miselium yang merupakan massa benang dalam jumlah besar yang terbentuk dari belitan hifa pada proses pertumbuhan jamur. Pada sebagian koloni jamur tertentu hifanya tumbuh menjalar dan pada sebagian koloni jamur yang lain hifanya tumbuh menegak (Rahmawati, 2019).

Klasifikasi jamur *C. albicans* menurut Waluyo (2011) adalah sebagai berikut: Famili *Saccharomycetaceae*, Genus *Candida* dan Spesies *Candida albicans*. *C. albicans* berasal dari bahasa latin yaitu *candidus* yang artinya putih berkilau dan *albicare* yang artinya memutih (Gow and Bhawna, 2017). Jamur *C. albicans* adalah mikroorganisme yang hidup bersama dengan mikroba flora mulut dalam keadaan yang seimbang (Khusnul dan Sri, 2018). Cendawan ini termasuk spesies ragi yang dominan di dalam rongga mulut dan merupakan suatu mikroorganisme yang pleomorfik dengan bentuk pertumbuhan yang berbeda yaitu berbentuk ragi (blastospora), hifa (pseudohifa) dan klamidospora (Leite *et al.*, 2014). Karakteristik dari *C. albicans* adalah berbentuk ovoid atau bulat telur dengan

diameter 3-5 μm dan dapat memproduksi pseudohifa. Spesies ini mempunyai dua jenis morfologi yaitu berbentuk khamir dan berbentuk hifa. Fenotip dari *C. albicans* dapat berubah warna dari berwarna putih dan rata menjadi kerut tidak beraturan, berbentuk lingkaran, bintang dan tidak tembus cahaya. Spesies ini merupakan jamur dimorfik karena memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu (Marsh, 2009).

C. albicans merupakan penyebab utama infeksi jamur invasif dan merupakan masalah kesehatan umum yang terjadi di masyarakat (Hartati dan Yasin, 2019), dapat ditemukan 40- 80 % pada manusia normal yang dapat sebagai mikroorganisme komensal atau patogen (Lestari, 2010). *C. albicans* adalah flora normal terutama pada saluran pencernaan, pada selaput mukosa saluran pernafasan, vagina, uretra, kulit dibawah jari-jari kuku tangan serta kaki. Spesies ini merupakan penyebab infeksi oportunistik yang disebut kandidiasis pada kulit, mukosa dan organ dalam manusia (Supriyanto, 2018), tetapi apabila terjadi perubahan fisiologis atau penurunan kekebalan tubuh maka *C. albicans* akan bersifat patogen, timbulah infeksi yang disebut kandidiasis (Gunawan dkk, 2018).



Gambar 7. Scanning Electron Microscopic *Candida albicans*
Sumber : Macias-Paz *et al* (2021)

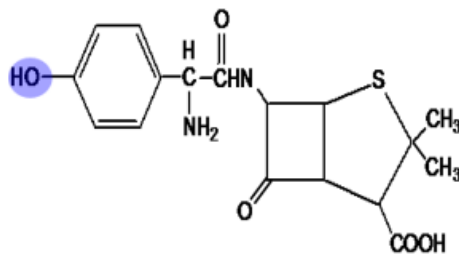
2.8 Antimikroba

2.8.1 Antibakteri

Antibakteri adalah komponen yang digunakan dalam mengatasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang digunakan untuk menekan pertumbuhan atau membunuh dari bakteri. Tipe antibakteri ada dua macam berdasarkan cara

kerja terhadap bakteri uji yaitu antibakteri spektrum luas yang mampu menekan pertumbuhan atau membunuh bakteri gram positif dan negatif dan spektrum sempit yang bekerja aktif terhadap beberapa jenis bakteri saja (Ryan dan Ray, 2004).

Bakteri *S. mutans* menyebabkan terjadinya karies gigi dan cara mengatasinya dengan menggunakan terapi antibiotik golongan penisilin yang menjadi *first line therapy* (Mellani dkk, 2017). Amoksisilin merupakan antibiotik golongan penisilin yang efektif untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif dan positif.

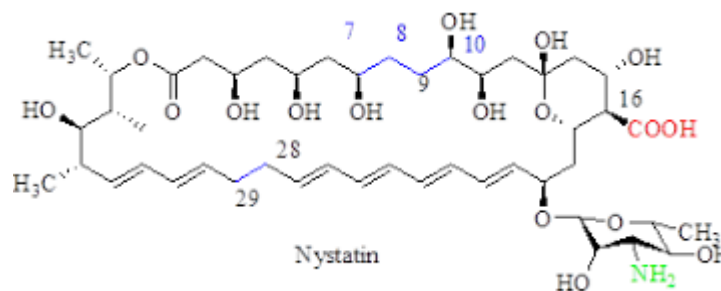


Gambar 8. Struktur kimia Amoksisilin
Sumber : Kaur *et al* (2011)

Mekanisme kerja amoksisilin yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan mengikat satu atau lebih ikatan penisilin-protein (PBPs – Protein binding penisilin's), sehingga menyebabkan penghambatan pada tahap akhir transpeptidase sintesis peptidoglikan dalam dinding sel bakteri, akibatnya biosintesis bakteri terhambat dan sel bakteri menjadi pecah (Kaur *et al.*, 2011).

2.8.2 Antijamur

Antijamur adalah obat-obatan bagian dari antibiotik yang mampu mengatasi infeksi jamur, bersifat *fungistatik* dan *fungisidal* yang artinya dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan jamur. Infeksi jamur yang sering terjadi salah satunya adalah kandidiasis yang disebabkan oleh jamur *C. albicans*. Antijamur Nistatin merupakan obat yang diisolasi dari *Streptomyces noursei*, dan tersedia dalam berbagai bentuk, seperti suspensi oral, krim topikal, dan pil oral. Nistatin digunakan secara oral maupun lokal untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *Candida* sp dan *Aspergillus* sp pada kulit, membrane mukosa, saluran cerna dan vagina (Wibowo, 2011).



Gambar 9. Struktur Kimia Nistatin

Sumber : Wibowo, A. E (2011)

2.9 Metode Pengujian Antimikroba

2.8.3 Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. *Disc diffusion test* atau uji difusi *disk* dilakukan dengan cara mengukur diameter zona bening (clear zone) yang menandakan adanya respons penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu metode kertas cakram, silinder dan metode lubang atau sumuran.

1. Difusi Kertas Cakram

Difusi kertas cakram merupakan cara untuk menetapkan kerentanan dari mikroba terhadap antibiotik dengan cara menginokulasi media agar dengan biakan, kemudian membiarkan antibiotik terdifusi ke media agar. Kertas cakram yang telah mengandung antibiotik diletakkan di permukaan media agar yang mengandung mikroba yang diuji. Pada masing-masing cakram dalam jarak tertentu, antibiotik akan terdifusi sampai titik antibiotik tersebut tidak lagi menghambat pertumbuhan dari mikroba. Efektivitas antibiotik ditunjukkan oleh adanya zona hambatan. Zona hambatan dapat terlihat sebagai area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi. Diameter dari zona dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong dan penggaris. Ukuran dari zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti kepadatan media biakan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram uji, sensitivitas mikroba terhadap antibiotik, serta interaksi antibiotik terhadap media (Rahmawati, 2019). Kategori

zona hambat terhadap bakteri dapat dilihat pada Tabel 1. dan kategori zona bening terhadap jamur dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Kategori Zona Hambat Terhadap Bakteri (Davis & Stout dalam Santoso dkk, 2020)

Zona Hambat	Keterangan
<5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat

Tabel 2. Kategori Zona Bening Terhadap Jamur (Santoso dkk, 2020)

Zona Bening	Keterangan
<10 mm	Lemah
10-15 mm	Sedang
16-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat

2. Silinder Plat

Metode difusi dengan cara ini yaitu menggunakan alat pencadangan berupa silinder kawat. Cara kerjanya yaitu pada permukaan media pembenihan dibiakan mikroba secara merata, kemudian diletakkan pencadang silinder. Pencadang silinder tersebut harus benar-benar melekat pada media. Proses selanjutnya adalah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu, setelah inkubasi pencadang silinder diangkat kemudian diukur daerah hambat pertumbuhan mikroba (Rahmawati, 2019).

3. Sumuran

Metode lubang atau sumuran adalah metode yang dilakukan dengan cara membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pada lempeng agar padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang kemudian diisi dengan zat antimikroba uji, lalu dilakukan proses

inkubasi. Jumlah serta letak lubang harus disesuaikan dengan tujuan penelitian. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, maka dapat dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Rahmawati, 2019).

2.8.4 Metode Dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan yaitu yang pertama teknik dilusi perbenihan cair dan yang kedua adalah teknik dilusi agar. Penggunaan metode dilusi memiliki tujuan untuk menentukan aktivitas antimikroba secara kuantitatif. Secara umum, cara kerjanya yaitu dengan melarutkan antimikroba kedalam media agar atau kaldu kemudian ditanami bakteri yang akan dites. Proses inkubasi dilakukan selama satu malam, setelah itu konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau MIC (*minimal inhibitory concentration*).

1. Dilusi Cair

Dilusi perbenihan cair terdiri dari dua jenis yaitu makrodilusi dan mikrodilusi. Pada dasarnya, kedua jenis tersebut memiliki proses pengerjaan yang sama hanya berbeda dalam jumlah volume. Pada makrodilusi volume yang digunakan adalah lebih dari 1 ml, sedangkan dalam mikrodilusi volume yang digunakan adalah 0,05 ml sampai 0,1 ml. Antimikroba yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran yang jumlahnya biasanya dalam satuan $\mu\text{g/ml}$. konsentrasinya bervariasi tergantung dari jenis dan sifat antibiotik.

2. Dilusi Agar

Pada metode dilusi agar, antibiotik yang sesuai dengan pengenceran akan ditambahkan kedalam agar, sehingga diperlukan perbenihan agar sesuai jumlah pengenceran ditambah satu perbenihan agar untuk kontrol tanpa penambahan antibiotik. Konsentrasi terendah dari antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri merupakan MIC antibiotik yang diuji. Kelebihan metode dilusi agar salah satunya adalah dapat digunakan untuk menentukan MIC dari *Neisseria gonorrhoeae* yang tidak dapat tumbuh pada Teknik dilusi perbenihan cair (Rahmawati, 2019).

BAB III

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan pada bulan Maret 2023 sampai dengan bulan Juni 2023.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sonikator (Branson m5800h), neraca digital (LabPro[®]), autoklaf (Hirayama[®]), oven (Mettler[®]), Petri dish (Pyrex[®]), grinder (Airlux[®]), inkubator (Nuve[®]), Laminar Air Flow, cawan krus, *thermometer*, tanur (Muffle Furnace[®]), desikator (Iwaki[®]), tabung reaksi (Pyrex[®]), rak tabung reaksi, gelas beaker (Pyrex[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), erlenmeyer (Pyrex[®]), corong (Pyrex[®]), vacuum rotary evaporator, ayakan mesh 40, kertas saring *Whatman* no 1, aluminium foil, jarum ose, bunsen, kertas cakram (*Whatman* no 40) diameter 6 mm, *magnetic stirrer*, jangka sorong, pipet volume.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang diperoleh dari kebun percobaan Cikabayan IPB, dan dideterminasi di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Bahan lain yang digunakan adalah isolat bakteri *S. mutans* serta Jamur *C. albicans* ATCC10231 yang berasal dari IPB Culture Collection, Amoksisilin tablet (Mersi) sebagai kontrol positif pengujian bakteri dan Nistatin suspense 100.000 IU/ml (Novel) sebagai kontrol positif pengujian jamur. Tween 1% sebagai kontrol negatif, media *Nutrient Agar* (NA), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), n-Heksana, Etil asetat, Etanol 96%, NaCl fisiologis, aquadest steril, asam klorida, larutan besi (III) klorida, serbuk magnesium, asam asetat, kloroform, reagen Bouchardat, Dragendorff, Mayer, natrium klorida, BaCl₂ 1%, H₂SO₄ 1%, H₂SO₄ dan bahan lainnya.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengambilan Bahan Baku dan Determinasi

Daun sirih hutan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari kebun percobaan Cikabayan IPB Dramaga, Jawa Barat. Determinasi dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) di Jl. Raya Jakarta-Bogor No. 32, Pakansari, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat.

3.3.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sirih Hutan

Daun sirih hutan yang telah diambil sebanyak 5,5 kg dibersihkan terlebih dahulu atau dilakukan proses sortasi basah untuk memisahkan dari pengotor, kemudian dicuci dengan air mengalir agar tidak ada pengotor yang tertinggal dan dirajang hingga berukuran kecil, selanjutnya daun sirih hutan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 45-50°C hingga kering, setelah kering dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor yang masih tertinggal. Daun sirih hutan kemudian dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan mesh 40 untuk mendapatkan simplisia serbuk (Hallianah dkk, 2019). Sampel ditimbang dan dihitung berat rendemen simplisia berdasarkan rumus berikut.

$$\% \text{ Rendemen simplisia serbuk} = \frac{\text{bobot simplisia serbuk yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia daun sirih hutan}} \times 100\%$$

3.3.3 Karakteristik Simplisia

Uji organoleptik adalah pengenalan awal secara subjektif yang dilakukan pengamatan meliputi bentuk, warna, aroma dan rasa dari simplisia dan ekstrak (DepKes RI, 2017).

3.3.4 Penentuan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode gravimetri. Sampel ditimbang sebanyak 2gram kemudian dimasukkan ke dalam cawan yang telah ditara dalam oven selama 15 menit kemudian dipanaskan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam kemudian didinginkan dan ditimbang bobotnya. Pengeringan

dilanjutkan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai bobot konstan atau selisih dua penimbangan terakhir tidak lebih dari 0,25%. Syarat kadar air tidak lebih dari 10% (DepKes RI, 2017). Berat kadar air dihitung berdasarkan rumus berikut.

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{(\text{bobot sebelum dipanaskan}) - (\text{bobot setelah dipanaskan})}{\text{bobot sampel}} \times 100\%$$

3.3.5 Penentuan Kadar Abu

Penetapan kadar abu dilakukan dengan menimbang sebanyak 2gram sampel, dimasukkan kedalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara kemudian dipijarkan pada tanur dengan suhu $\pm 600^{\circ}\text{C}$. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian dinginkan dalam desikator dan ditimbang. Timbang hingga bobot konstan atau selisih dua penimbangan terakhir tidak lebih dari 0,25% (DepKes RI, 2008). Berat kadar abu dihitung berdasarkan rumus berikut.

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{(\text{bobot kurs+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot kurs kosong})}{\text{bobot simplisia serbuk}} \times 100 \%$$

3.3.6 Pembuatan Ekstrak dengan *Ultrasonic Assisted Extraction*

Serbuk simplisia daun sirih hutan diekstraksi menggunakan *Ultrasonic* pada frekuensi 40 kHz, suhu 40°C dan waktu ekstraksi dilakukan selama 15 menit, dengan 3 pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat (semi polar) dan etanol 96% (polar). Penggunaan suhu 40°C berdasarkan pada penelitian Buanasari (2019) dimana potensi UAE dalam mengekstrak senyawa aktif didapatkan hasil optimal pada suhu 40°C , penggunaan suhu 15 menit didasarkan pada penelitian Hendryani (2015) dan Kanifah (2015) dimana didapatkan rendemen tertinggi pada ekstrak etil asetat dan etanol, dan penggunaan ekstraksi pada frekuensi 40 kHz didasarkan pada penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya dimana pada ekstraksi UAE menggunakan frekuensi 40 kHz dan menurut (Golmohamadi, 2013) 40 kHz digunakan karena dapat menggetarkan fluida sel dan menghancurkan dinding sel. Jumlah serbuk simplisia daun sirih hutan yang ditimbang sebanyak 300 gram ditambahkan pelarut sebanyak 3000 mL (1:10) dicampurkan pada erlenmeyer.

Ekstraksi pertama dengan pelarut n-heksana dilakukan penyaringan dengan cara, larutan disaring menggunakan kertas *Whatman* no. 1 dan dipisahkan, residu yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan oven hingga kering. Residu yang diperoleh setelah kering diekstraksi kembali dengan pelarut etil asetat dengan prosedur yang sama hingga didapatkan filtrat. Residu dikeringkan kembali dengan oven setelah kering diekstraksi kembali dengan pelarut etanol 96% dengan prosedur yang sama hingga diperoleh filtrat. Filtrat yang dihasilkan dari masing-masing pelarut yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol 96% ditampung secara terpisah, kemudian diuapkan dengan menggunakan *Rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali (triplo) pada teknik ekstraksi yang sama. Hasil ekstraksi secara keseluruhan menghasilkan 3 jenis ekstrak kental yaitu ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol, masing-masing ekstrak selanjutnya ditimbang. Rendemen ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot simplisia serbuk daun sirih hutan}} \times 100 \%$$

3.3.7 Skrining Fitokimia

3.3.7.1 Uji Alkaloid

Sebanyak 0,3gram ekstrak daun sirih hutan ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml HCl 2M, selanjutnya dipanaskan pada penangas air hingga mendidih setelah itu dinginkan dan saring. Filtrat yang dihasilkan kemudian dibagi menjadi 3 bagian dalam masing-masing tabung reaksi :

1. Uji Dragendorf (Kalium bismuth nitrat), tabung reaksi pertama diberikan beberapa tetes pereaksi dragendorf. Endapan jingga yang terbentuk di dalam tabung reaksi menandakan adanya senyawa alkaloid.
2. Uji Bouchardat (Kalium iodida), tabung reaksi kedua diberikan beberapa tetes pereaksi bouchardat. Endapan coklat yang terbentuk menandakan adanya senyawa alkaloid.
3. Uji Mayer (Kalium merkuri iodida), tabung reaksi ketiga diberikan beberapa tetes pereaksi mayer. Endapan putih kekuningan yang terbentuk di dalam tabung reaksi menandakan adanya senyawa alkaloid (Hanani, 2016).

3.3.7.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2-3 mL metanol, kemudian ditambahkan dengan serbuk Mg dan beberapa tetes asam klorida pekat. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menandakan adanya flavonoid (Hanani, 2015).

3.3.7.3 Uji Tanin

Sebanyak 0,1 g sampel ditambahkan 5 ml air panas lalu dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat yang diperoleh ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 5%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru hitam atau hijau coklat (Hanani, 2016).

3.3.7.4 Uji Saponin

Sebanyak 0,1 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, dinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya buih selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1–10 cm maka menunjukkan hasil yang positif (Kursia dkk, 2016).

3.3.7.5 Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,1 g sampel dilarutkan ke dalam n-heksan, ditambahkan 1 mL CH_3COOH dan 0,5 mL H_2SO_4 pekat, terbentuknya cincin berwarna merah menandai adanya senyawa golongan terpenoid dan munculnya warna hijau hingga biru menunjukkan adanya steroid (Kusumo dkk, 2022).

3.3.8 Pengujian Mikrobiologi

3.3.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan yang akan digunakan seperti alat-alat gelas, cawan petri, kertas cakram, ose, pipet volume, dan pinset disterilkan terlebih dahulu. Peralatan yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas kemudian pada tabung reaksi ditutup dengan sumbatan yang terbuat dari kapas yang ditutup kain kasa, kemudian peralatan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya alat-alat gelas bisa dimasukkan dalam oven sampai peralatan tersebut siap digunakan (Waluyo, 2008).

Pada alat pinset dan jarum dilakukan pemanasan dengan api bunsen untuk disterilisasi. Sterilisasi kertas cakram dan media pembenihan menggunakan sterilisasi uap panas diautoklaf pada suhu 110-121°C selama 15 menit dan dikeringkan pada oven dengan suhu 150°C (Waluyo, 2008).

3.3.8.2 Pembuatan Media Agar

1. Nutrient Agar (NA)

Untuk bakteri *S. mutans* ditimbang media NA sebanyak 23 g, dilarutkan dalam 1 L *aquadest*, selanjutnya dipanaskan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga mendidih sampai menjadi bening dan homogen. Larutan dituang ke dalam tabung reaksi yang sudah disiapkan kurang lebih masing-masing 10 ml, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1,5 atm. Tabung reaksi berisi media yang sudah disterilkan disimpan dalam posisi miring.

2. Potato Dextrose Agar (PDA)

Untuk jamur *C. albicans*, sebanyak 39 g media PDA ditimbang, dilarutkan dalam 1 L *aquades* dihomogenkan selama 30 detik, kemudian ditambahkan 200 mg/1 L Kloramfenikol selanjutnya dipanaskan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga mendidih sampai menjadi bening dan homogen. Media dituang ke dalam tabung reaksi kurang lebih masing-masing 6 ml, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1,5 atm. Tabung reaksi yang sudah disterilkan disimpan dalam posisi miring.

3.3.8.3 Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (*McFarland*)

McFarland 0,5 yaitu 0,05 ml Barium Clorida (BaCl_2) 1% dalam akuades dicampurkan dengan 9,95 ml Asam Sulfat (H_2SO_4) 1%, dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh (Aviany dan Pujiyanto, 2020). Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji. Kekeruhan larutan standar McFarland 0,5 setara dengan 10^8 CFU/ml (Munthe *et al.*, 2015) Disimpan di tempat yang terhindar dari cahaya matahari langsung (Nurhayanti, 2007).

3.3.8.4 Peremajaan Bakteri dan Jamur

Bakteri dan jamur yang digunakan harus dibiakan terlebih dahulu dengan cara diambil dari biakan murni sebanyak satu ose secara aseptis lalu diremajakan dengan cara menggoreskan jarum ose yang telah mengandung biakan secara zig-

zag pada permukaan media agar miring. Penggoresan diulangi sebanyak 3 kali. Media *Nutrient Agar* (NA) digunakan untuk bakteri *S. mutans* dan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk jamur *C. albicans*, kemudian semua biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri dan 2 x 24 jam untuk jamur (Shabir dkk., 2018).

3.3.8.5 Pembuatan Suspensi Bakteri dan Jamur

Suspensikan biakan bakteri uji yang berumur 24 jam dan jamur uji yang berumur 2 x 24 jam dari media agar miring ke dalam tabung reaksi yang berisi 7 mL larutan NaCl fisiologis 0,9% steril kemudian homogenan. Biakan murni tadi kemudian diambil sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan dengan 7,5 mL NaCl fisiologis 0,9% di dalam tabung reaksi steril dan homogenkan. Diambil 0,5 mL dari tabung reaksi untuk pengujian antimikroba, hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan larutan standar 0,5 McFarland. Suspensi bakteri yang digunakan adalah suspensi yang mengalami pengenceran 1:10⁶ yang sama dengan kekeruhan standar McFarland, kemudian dihomogenkan. Perlakuan yang sama dilakukan pada uji jamur (Shabir dkk, 2018).

3.3.8.6 Preparasi Kertas Cakram

Kertas cakram berbentuk bulat dibuat dari kertas saring *Whatman* no.40 lalu dibentuk menjadi bulat dengan diameter 6 mm, selanjutnya disterilkan dengan cara diletakkan dalam cawan petri dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C. Kertas cakram yang telah steril direndam selama 30 menit dalam bahan aktif sesuai perlakuan seperti ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 96% dari daun sirih hutan, kontrol positif amoksilin dan nistatin serta kontrol negatif tween 1%, kemudian dikeringkan ke dalam oven selama 24 jam dengan suhu 40-50°C hingga kering dan siap untuk digunakan (Kadek dkk, 2019).

3.3.9 Pembuatan Larutan Uji dan Pemanding

3.3.9.1 Larutan Uji

Pembuatan larutan uji untuk pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Lebar Daerah Hambat (LDH) dibuat dari masing-masing ekstrak (n-heksan, etil asetat, dan etanol 96%) untuk bakteri dan jamur. Ekstrak daun sirih

hutan dari masing-masing pelarut dibuat larutan stok dengan konsentrasi 30% dengan menimbang ekstrak sebanyak 6 gram yang dilarutkan dalam tween 1% sebanyak 20 mL dan dilakukan pengenceran pada larutan stok dengan seri konsentrasi 25, 20, 15, 10, 5, 2, 1 dan 0,5% untuk pengujian KHM. Pada uji LDH dibuat larutan stok dengan konsentrasi 50% dengan menimbang 5 gram ekstrak yang dilarutkan dalam 10 ml tween 1% dan dibuat dengan seri konsentrasi 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 dan 5%.

3.3.9.2 Larutan Pembanding

Larutan kontrol yang dibuat yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan untuk bakteri *S. mutans* adalah sediaan obat tablet amoksisilin 500 mg dibuat konsentrasi 100 ppm. Pembuatan kontrol positif dilakukan dengan cara digerus beberapa tab amoksisilin dan ditimbang sebanyak 500 mg kemudian dilarutkan dalam aquadest steril 500 ml dan dimasukkan kedalam labu 500 ml. Pengenceran dari larutan induk dibuat dengan di pipet 1 mL larutan induk diencerkan ke dalam labu ukur 10 mL (100 ppm). Penggunaan aquadest sebagai pelarut kontrol positif amoksisilin karena merupakan senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri yang dibuktikan dalam penelitian (Wahyuni, 2020) yang menunjukkan tidak adanya daya hambat pertumbuhan *S. mutans* yang dilakukan pengujian dengan aquadest, sehingga aquadest dinyatakan aman sebagai pelarut amoksisilin. Kontrol positif yang digunakan untuk pengujian jamur *C. albicans* adalah Nistatin 100.000 IU/mL. Kontrol negatif menggunakan tween 1% yaitu tween 1 mL dalam 100 mL aquadest.

3.3.10 Pengujian Aktivitas Antibakteri dan Antijamur

3.3.10.1 Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan konsentrasi hambat minimum KHM dilakukan dengan metode dilusi agar dan pada penelitian Anas dkk (2018) konsentrasi hambat minimum dari ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan *S. mutans* adalah pada konsentrasi 1%, sehingga KHM ekstrak daun sirih hutan yang akan digunakan untuk dilakukan uji pendahuluan seperti yang tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Hutan

Pelarut	Mikroba	Konsentrasi Ekstrak (%)			
n-Heksana	<i>S. mutans</i>	0,5	1	2	5
Etil asetat		0,5	1	2	5
Etanol 96%	<i>C. albicans</i>	0,5	1	2	5

Pengujian KHM untuk bakteri menggunakan metode dilusi agar, media steril NA (*Nutrient agar*) dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 15 mL pada suhu 45°C, selanjutnya ditambahkan 1 mL ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 96% secara aseptis dari tiap konsentrasi. Biakan bakteri ditambahkan ke dalamnya sebanyak 0,2 mL, homogenkan dan biarkan hingga memadat dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengujian KHM untuk jamur dilakukan dengan cara yang sama seperti pengujian bakteri, dengan menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) ditambahkan biakan jamur kemudian diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi terkecil dari ekstrak daun sirih hutan yang tidak ditumbuhi bakteri maupun jamur disebut KHM.

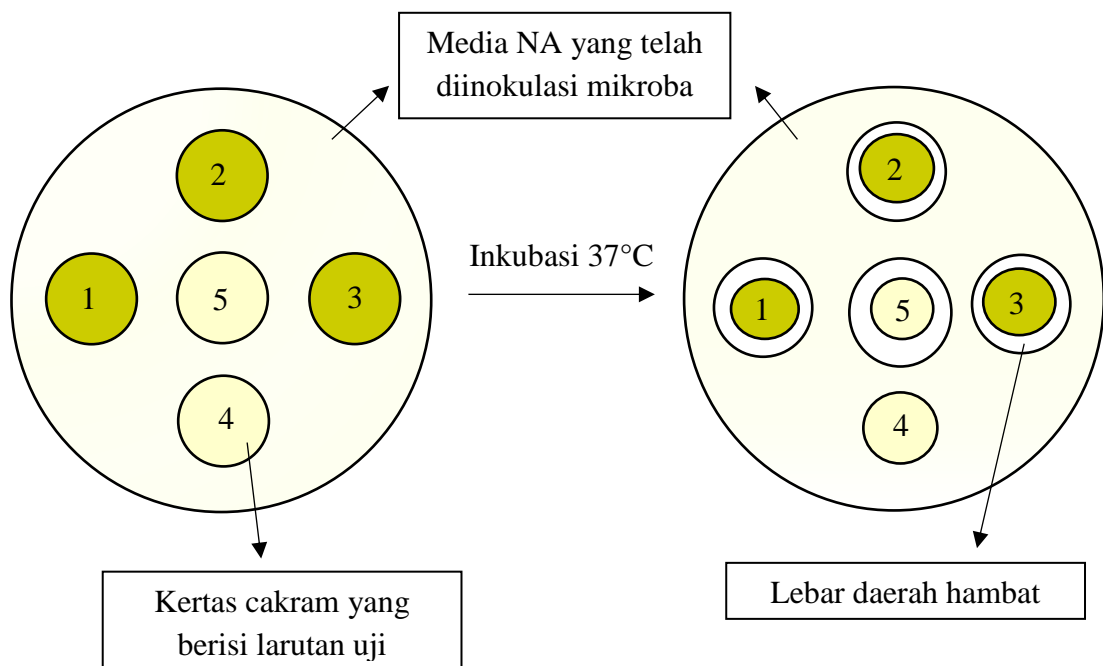
3.3.10.2 Pengujian Lebar Daerah Hambat (LDH)

Pengujian LDH ekstrak sirih hutan yang dihasilkan dilakukan dengan metode difusi kertas cakram. Pengujian LDH bakteri *S. mutans* menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dan Jamur *C. albicans* menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang telah disterilkan diberikan suspensi mikroba sebanyak 0,2 mL menggunakan pipet steril ke dalam media dan dihomogenkan dengan cara membentuk angka delapan dan didiamkan hingga agak mengering. Media yang telah memadat di atasnya diletakan kertas cakram yang telah berisi ekstrak dengan konsentrasi sesuai perlakuan, kontrol positif amoksisilin untuk *S. mutans*, nistatin untuk *C. albicans* dan juga kontrol negatif tween 1% di atas permukaan media menggunakan pinset steril, dan simetris dengan jarak 20 mm dari tepi cawan Petri (Waluyo, 2008). Diinkubasi selama 24 jam pada bakteri dan 2x24 jam pada jamur dengan suhu 37°C (Ni Kadek Y. S., dkk, 2019). Uji LDH ini dilakukan untuk 3 jenis ekstrak yang berbeda, yaitu ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% dengan menggunakan metode yang sama. Kemudian diamati dan diukur luas

diameter daerah hambat atau area bening yang terbentuk pada cawan petri menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 mm (Waluyo, 2008). Pengukuran LDH dapat dihitung dengan rumus berikut.

$$\text{Lebar Daerah Hambat (LDH)} = \frac{\text{Diameter daerah hambat} - \text{Diameter Kertas Cakram}}{2}$$

Lalu dibandingkan dengan area bening dari cakram uji ekstrak sirih hutan, kontrol positif dan negatifnya.



Gambar 10. Posisi kertas cakram uji pada uji LDH

Keterangan :

- 1,2,3 = Ekstrak n-heksana, etil asetat, etanol 96% daun sirih hutan sesuai konsentrasi
- 4 = Kontrol negatif
- 5 = Kontrol positif

3.3.11 Parameter Penelitian

1. Memeriksa kualitas simplisia dan ekstrak daun sirih hutan meliputi kadar air dan kadar abu.

2. Melakukan identifikasi fitokimia secara kuantitatif yang terkandung didalam daun sirih hutan meliputi uji alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid/terpenoid secara kualitatif.
3. Mengukur nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Lebar Daerah Hambat (LDH) ekstrak daun sirih hutan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*.
4. Mengetahui jenis ekstrak dengan konsentrasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*.

3.3.12 Analisis Data

Analisis data dilakukan untuk memperoleh kesimpulan dari hasil penelitian yang dilakukan, dan juga untuk mengetahui adanya perbedaan hasil zona hambat diantara perlakuan. Hasil data yang diperoleh dari uji lebar daerah hambat terhadap bakteri *S. mutans* dan Jamur *C. albicans* dianalisis dengan menggunakan program IBM[®] SPSS (*Statistical Package for the Sosial Science*) Statistic 24 for windows dan kemudian diolah menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan Faktorial Rancangan Acak Lengkap (FRAL). Analisis uji menggunakan RAL karena terdapat 2 faktor yang berbeda yaitu jenis pelarut dan variasi konsentrasi dan data yang digunakan merupakan data yang homogen. Penelitian ini dilakukan dengan perlakuan masing-masing 3x3 dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha \leq 0,05$) untuk menguji masing-masing ekstrak terhadap bakteri dan jamur dimana satu jenis pelarut ekstrak terdiri dari 3 konsentrasi yang diulang sebanyak 3 kali setelah dilakukan analisis data dengan Faktorial RAL kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan uji Duncan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Determinasi Tanaman

Daun sirih hutan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil determinasi tanaman yang sudah dilakukan di Badan Riset dan Teknologi Nasional (BRIN) di Pusat Penelitian Biologi, Cibinong bogor. Hasil determinasi pada surat No.B-869/II.6.2./IR.01.02/5/2023 menyatakan bahwa sampel yang diperiksa adalah *Piper aduncum* L. merupakan bagian dari suku *Piperaceae*. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang akan digunakan dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan tanaman sebagai bahan utama penelitian. Hasil determinasi tanaman daun sirih hutan dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.2 Hasil pembuatan Simplisia Serbuk Daun Sirih Hutan

Daun sirih hutan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari kebun percobaan Cikabayan IPB Dramaga, Jawa Barat. Daun sirih hutan yang diperoleh sebanyak 5,5 kg yang kemudian disortasi basah untuk memisahkan dari pengotor yang menempel dan membuang bagian yang tidak terpakai pada daun sirih hutan, kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih agar tidak ada pengotor yang tertinggal, selanjutnya daun sirih hutan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 45-50°C hingga daun kering, setelah kering dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor yang masih tertinggal. Daun sirih hutan kering selanjutnya dihaluskan menggunakan grinder kemudian diayak menggunakan *mesh* 40 untuk memperoleh ukuran serbuk yang seragam dan memperbesar luas permukaan simplisia.

Tujuan pembuatan serbuk simplisia adalah untuk memperbesar luas permukaan serbuk simplisia daun sirih hutan, menghomogenkan ukuran partikel serbuk agar dapat mempermudah dalam melakukan proses ekstraksi sehingga proses pengujian lebih efektif dan efisien. Serbuk simplisia yang dihasilkan sebesar 1.125 gram dan rendemen yang diperoleh yaitu 20,455%. Perhitungan rendemen

dapat dilihat pada Lampiran 5. Karakteristik simplisia daun sirih hutan dari hasil pengujian organoleptik menunjukkan bahwa serbuk simplisia berwarna hijau kecoklatan, berbau khas aromatik, dan rasa pahit. Serbuk simplisia daun sirih hutan dapat dilihat pada Gambar 11.



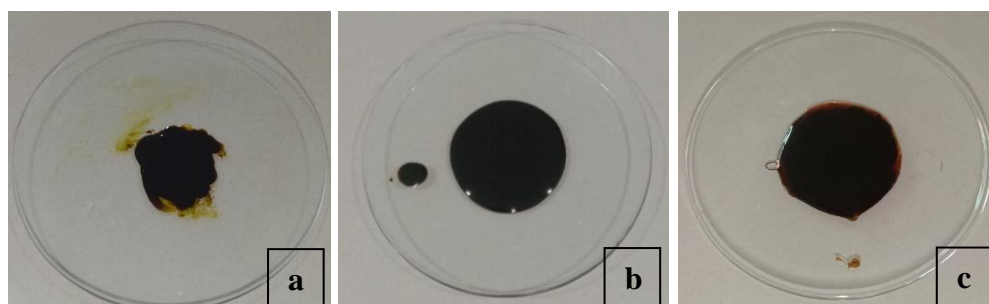
Gambar 11. Serbuk Simplisia Daun Sirih Hutan

4.3 Hasil Pembuatan Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Etanol Daun Sirih Hutan

Ekstraksi simplisia daun sirih hutan dilakukan dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) bertingkat dengan tiga pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol 96% yang dimana masing-masing pelarut menggunakan perbandingan 1:10, pada frekuensi 40 kHz, suhu 40°C selama 15 menit. Metode UAE digunakan karena merupakan metode modern yang memiliki banyak keunggulan dibandingkan metode konvensional antara lain efisiensi waktu ekstraksi dan pada penelitian Kanifah dkk (2015) menyebutkan bahwa ekstraksi ultrasonik memiliki kemampuan yang lebih cepat dan lebih sempurna dibandingkan metode ekstraksi konvensional maserasi dan sokletasi yaitu dapat meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding sel sehingga meningkatkan jumlah komponen sel yang berdifusi ke dalam pelarut. Ekstraksi bertingkat dilakukan agar dapat mengekstraksi secara maksimal dan menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan. Ekstraksi dilakukan pada suhu 40°C karena berdasarkan penelitian Buanasari (2019) potensi metode UAE dalam mengekstrak senyawa aktif dari bahan alam sudah mampu memberikan hasil yang optimal pada suhu 40°C. Waktu ekstraksi yang dipilih yaitu selama 15 menit karena berdasarkan penelitian Hendryani (2015) ekstrak daun sirih merah pada pelarut etanol dan etil asetat dengan rendemen tertinggi terdapat pada lama ekstraksi selama 15 menit. Penggunaan ekstraksi pada

frekuensi 40 kHz didasarkan pada penelitian (Golmohamadi, 2013) dimana frekuensi 40 kHz digunakan karena dapat menggetarkan fluida sel dan menghancurkan dinding sel.

Hasil ekstraksi daun sirih hutan yang didapat diuapkan dengan menggunakan *Rotary Evaporator* dan didapatkan tiga jenis ekstrak kental yaitu ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol. Hasil pengamatan organoleptik pada ketiga ekstrak tidak terlalu berbeda, ekstrak n-heksan berwarna coklat kehijauan, bentuk ekstrak kental pekat sedikit berminyak dan bau khas aromatik kuat. Pengamatan organoleptik ekstrak etil asetat didapatkan ekstrak berwarna coklat kehitaman, berbentuk cairan kental dan bau khas aromatik kuat. Pada pengamatan organoleptik ekstrak etanol didapatkan ekstrak berwarna coklat kemerahan, bentuk ekstrak kental dan bau khas aromatik kuat. Pelarut yang bersifat nonpolar memiliki kemampuan lebih besar dalam mengekstraksi senyawa-senyawa organik bersifat nonpolar seperti minyak atsiri sehingga ekstrak terlihat berminyak. Ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Ekstrak Kental Daun Sirih Hutan

Keterangan a. Ekstrak n-Heksan b. Ekstrak Etil Asetat c. Ekstrak Etanol 96 %

Rendemen rata-rata ekstrak n-heksan yang didapat sebesar 3,26%, kemudian pada ekstrak etil asetat didapat sebesar 5,07% dan pada ekstrak etanol 96% didapat sebesar 10,15%. Rendemen ekstrak yang dihasilkan hanya sedikit karena pelarut sudah teruapkan, sehingga ekstrak kental hanya mengandung kandungan senyawa dari daun sirih hutan. Hasil rendemen yang paling tinggi terdapat pada ekstrak etanol 96%. Hasil rendemen ini menunjukkan polaritas pelarut berpengaruh terhadap jumlah rendemen yang diperoleh. Ekstrak etanol

didapatkan hasil rendemen paling besar dibandingkan dengan ekstrak dari pelarut etil asetat dan n-heksan, hal ini dikarenakan etanol memiliki gugus polar yang lebih kuat dari pada gugus nonpolar dan dari struktur kimianya yang mengandung gugus hidroksil (polar) dan juga gugus karbon (nonpolar) (Ukhty, 2011). Penelitian Kanifah, dkk (2015) menyatakan bahwa perbedaan jumlah rendemen dapat diakibatkan karena perbedaan titik didih dari masing-masing pelarut. Pelarut n-heksan memiliki titik didih sebesar 69°C, sedangkan etil asetat memiliki titik didih sebesar 77°C dan etanol memiliki titik didih sebesar 78,32°C. Sehingga pada saat pelarut diuapkan dengan *Rotary Evaporator* pada suhu 50°C, n-heksan lebih cepat menguap jika dibandingkan dengan etanol dan etil asetat. Pelarut dengan titik didih yang tinggi akan menghasilkan rendemen yang tinggi pula. Perhitungan persentase rendemen ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% dapat dilihat pada Lampiran 5. Data disajikan dalam bentuk tabel berikut.

Tabel 4. Hasil Karakterisasi Ekstrak

Pelarut	Uji Organoleptik			Rendemen rata-rata (%) \pm SD
	Aroma	Warna	Bentuk/Tekstur	
n-Heksana	Khas aromatik kuat	Coklat kehijauan	Kental	3,26 \pm 0,32
Etil Asetat	Khas aromatik kuat	Coklat kehitaman	Kental	5,07 \pm 0,18
Etanol 96%	Khas aromatik kuat	Coklat kemerahan	Kental	10,15 \pm 0,27

4.4 Hasil Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih Hutan

Penetapan kadar air simplisia dan ekstrak daun sirih hutan dilakukan dengan metode gravimetri dengan prinsip kerja yaitu menguapkan air yang ada pada bahan dengan pemanasan pada suhu 105°C, kemudian bahan ditimbang hingga memperoleh bobot konstan. Pengukuran kadar air sebelum ekstraksi bertujuan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan atau rentang yang diperbolehkan terkait dengan kemurnian dan kontaminasi

(DepKes RI, 2000). Kandungan air yang tinggi pada suatu simplisia dapat menjadi media pertumbuhan mikroorganisme, karena air merupakan salah satu media yang baik untuk pertumbuhan mikroba sehingga dapat mempengaruhi zat aktif yang terkandung didalam simplisia dan dapat menurunkan mutu simplisia. Kadar air yang hilang pada simplisia dapat memperpanjang masa penyimpanan serbuk simplisia (Sugiarti dan Setyawati, 2017).

Hasil rata-rata penetapan kadar air pada serbuk simplisia daun sirih hutan yaitu sebesar 5,33%, menurut DepKes RI (2014) syarat kadar air suatu simplisia yaitu $\leq 10\%$. Hasil ini menunjukkan simplisia daun sirih hutan yang digunakan telah memenuhi syarat. Pada ekstrak n-heksana daun sirih hutan didapatkan hasil kadar air rata-rata sebesar 7,31%, kemudian pada ekstrak etil asetat didapatkan hasil sebesar 6,48% dan pada ekstrak etanol 96% sebesar 6,09%. Syarat kadar air ekstrak kental yaitu $\leq 17\%$ (DepKes RI, 2008). Hasil kadar air dari masing-masing ekstrak daun sirih hutan yang digunakan menunjukkan bahwa telah memenuhi syarat. Hasil kadar air pada ketiga jenis ekstrak daun sirih hutan menunjukkan pada ekstrak n-heksan didapatkan kadar air yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan etanol 96%, dimana n-heksan merupakan pelarut nonpolar yang seharusnya kadar air yang dimiliki lebih rendah dibandingkan ekstrak dengan pelarut semi polar dan polar karena air merupakan senyawa polar, hal ini dikarenakan adanya kesalahan pada saat penelitian, dimana pada saat penyaringan hasil ekstraksi daun sirih hutan menggunakan pelarut n-heksan, kertang saring yang digunakan merupakan tipe kertas saring polar dan pada kertas saring dibasahi terlebih dahulu menggunakan pelarut aquadest seharusnya pada saat penyaringan pelarut nonpolar yaitu n-heksan digunakan kertas saring dengan tipe nonpolar juga. Perhitungan kadar air serbuk simplisia dapat dilihat pada Lampiran 6 dan perhitungan kadar air ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 7.

Penetapan kadar abu simplisia dan ekstrak daun sirih hutan dengan menggunakan prinsip pemanasan bahan pada suhu tinggi yakni sekitar 500-600°C dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, kemudian dilakukan penimbangan zat yang tertinggal setelah proses pembakaran tersebut (DepKes RI, 2000). Penetapan kadar abu dilakukan bertujuan untuk mengetahui

kadar zat anorganik dan mineral yang terkandung dalam simplisia yang berasal dari tanaman maupun kontaminasi selama proses pembuatan simplisia (DepKes RI, 1995). Tingginya kadar abu pada suatu sampel menunjukkan tingginya kandungan mineral pada sampel tersebut (Lesbani *et al*, 2011).

Hasil rata-rata penetapan kadar abu simplisia daun sirih hutan yang didapat yaitu sebesar 9,15%. Hasil ini sesuai dengan ketentuan pada Material Medika Indonesia jilid IV yang menetapkan kadar abu total yang baik pada simplisia sirih tidak lebih dari 14%. Pada ekstrak n-heksana daun sirih hutan didapatkan hasil kadar abu rata-rata sebesar 9,10%, kemudian pada ekstrak etil asetat didapatkan hasil sebesar 9,02% dan pada ekstrak etanol 96% sebesar 7,99%. Syarat kadar abu total ekstrak adalah $\leq 10\%$ (Rasydy, 2019). Kadar abu hendaknya mempunyai nilai kecil karena parameter ini menunjukkan adanya cemaran logam berat yang tahan pada suhu tinggi (Rasydy, 2019). Perhitungan kadar abu serbuk simplisia dapat dilihat pada Lampiran 8 dan perhitungan kadar abu ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 9. Data disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar Air dan Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih Hutan

Sampel	Kadar Air (%) \pm SD	Kadar Abu (%) \pm SD
Serbuk Simplisia	5,32 \pm 0,08	9,15 \pm 0,12
Ekstrak n-Heksana	7,31 \pm 0,20	9,10 \pm 0,07
Ekstrak Etil Asetat	6,48 \pm 0,11	9,02 \pm 0,09
Ekstrak etanol 96%	6,08 \pm 0,07	7,99 \pm 0,08

4.5 Hasil Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih hutan

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif atau senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam tumbuhan daun sirih hutan. Skrining fitokimia simplisia dan ekstrak daun sirih hutan yang dilakukan antara lain alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Pengamatan yang dilakukan untuk mengetahui keberadaan golongan senyawa yang diuji meliputi reaksi perubahan warna, timbulnya endapan dan perubahan bentuk yang terjadi setelah direaksikan dengan masing-masing reagen menggunakan uji tabung. Hasil

uji fitokimia serbuk simplisia dan masing-masing ekstrak daun sirih hutan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Pengujian Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih Hutan

Senyawa Aktif	Pereaksi	Simplisia	Ekstrak		
			n-Heksan	Etil Asetat	Etanol 96%
Alkaloid	Dragendorff	+	+	+	+
	Mayer	+	+	+	+
	Bouchardat	+	+	+	+
Tannin	FeCl ₃	+	-	+	+
Flavonoid	Serbuk Mg	+	-	-	+
Saponin	Aquadest	+	+	+	+
Terpenoid	Liebermann-Burchard	+	+	+	-

Keterangan:

(+) mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Hasil pengujian fitokimia pada serbuk simplisia daun sirih hutan positif mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, tannin, flavonoid, saponin dan terpenoid. Pada ekstrak n-heksana mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin dan terpenoid. Alkaloid dapat tertarik pada ekstrak n-heksan hal ini sejalan dengan penelitian (Renda dkk, 2023) yang dimana hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak n-heksan`memberikan hasil positif terdapat kandungan alkaloid, hal ini menjelaskan bahwa alkaloid dapat larut dalam pelarut polar dan nonpolar. Senyawa alkaloid dapat larut dalam pelarut nonpolar (Harborne, 1987) dan sebagian besar larut dalam pelarut polar karena alkaloid merupakan senyawa organik yang mengandung basa nitrogen yang bersifat basa (Bruneton, 1999). Pada ekstrak etil asetat didapatkan senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu alkaloid, tannin, saponin dan terpenoid. Pada ekstrak etanol 96% mengandung senyawa alkaloid, tannin, flavonoid dan saponin, hasil identifikasi yang didapat pada ekstrak etanol daun sirih hutan sama seperti penelitian Safriana dkk (2019) dan Hallianah dkk (2019).

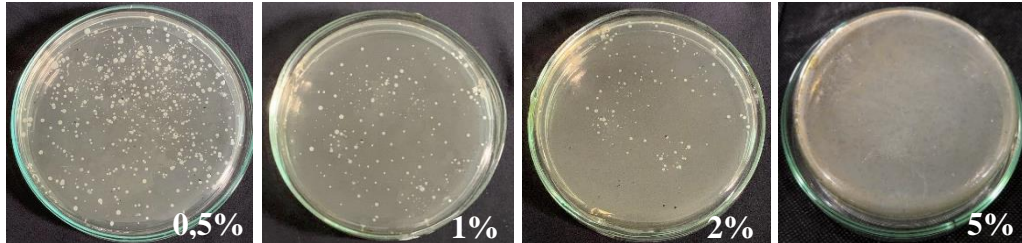
Perbedaan keberadaan senyawa metabolit sekunder pada masing-masing ekstrak dikarenakan adanya perbedaan sifat kepolaran dari tiap pelarut yang menarik senyawa tersebut. Penarikan senyawa metabolit didasari dengan prinsip *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan menarik senyawa polar, begitu juga sebaliknya pelarut non polar akan menarik senyawa non polar (Damayanti & Ervilita, 2019). Senyawa alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin umumnya dapat ditarik oleh pelarut polar seperti etanol, kemudian senyawa terpenoid, steroid adalah senyawa nonpolar yang umumnya dapat ditarik oleh pelarut nonpolar seperti n-heksan dan kloroform, sedangkan etil asetat senyawa semi polar yang kemungkinan dapat menarik senyawa polar atau nonpolar (Dewatisari, 2020). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung menandakan bahwa daun sirih hutan dapat menghasilkan efek farmakologis dan berpotensi untuk digunakan sebagai pengobatan alami antimikroba.

4.6 Hasil Uji Antimikroba Terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*

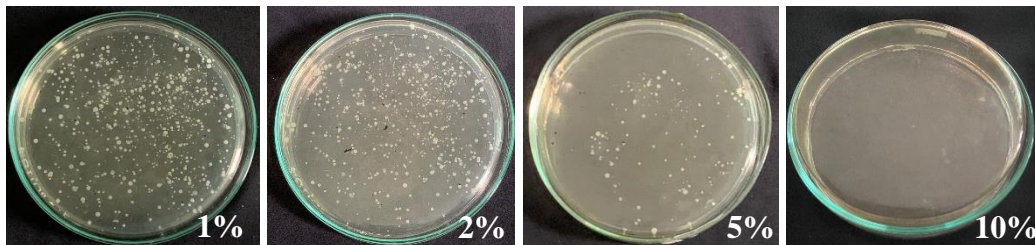
4.6.1 Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Pengujian aktivitas antimikroba dari ekstrak daun sirih hutan dilakukan terhadap bakteri *S. mutans* dan jamur *C. albicans* didapatkan dari biakan murni, hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 3 dan 4. Uji KHM ekstrak daun sirih hutan bertujuan untuk melihat konsentrasi terkecil dari ketiga jenis ekstrak daun sirih hutan dilakukan dengan metode dilusi padat untuk mengetahui daya hambat minimum dari masing-masing ekstrak terhadap bakteri *S. mutans* dan jamur *C. albicans*. Daya hambat minimum ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri dan jamur pada media yang dilakukan dengan cara mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008). Pengujian KHM terhadap bakteri *S. mutans* menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dengan deret konsentrasi yang digunakan yaitu 0,5%, 1%, 2% dan 5% untuk ekstrak n-heksan dan untuk konsentrasi ekstrak etil asetat dan etanol yaitu 1%, 2%, 5% dan 10%. Pengujian KHM terhadap jamur *C. albicans* menggunakan media *Potato Dextrose Agar*

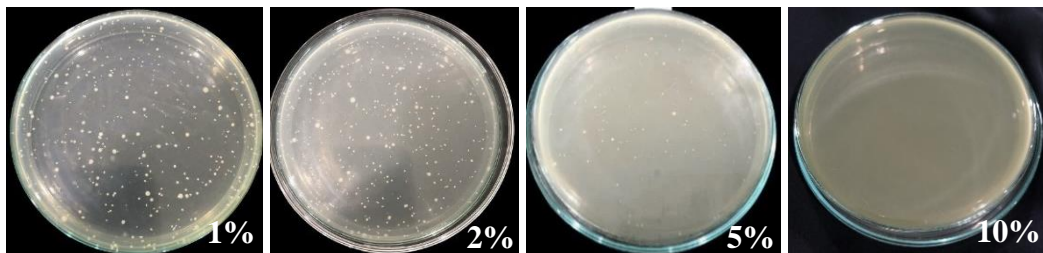
(PDA) dengan deret konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20%, 25%. Hasil pengujian konsentrasi hambat minimum dapat dilihat pada gambar berikut:



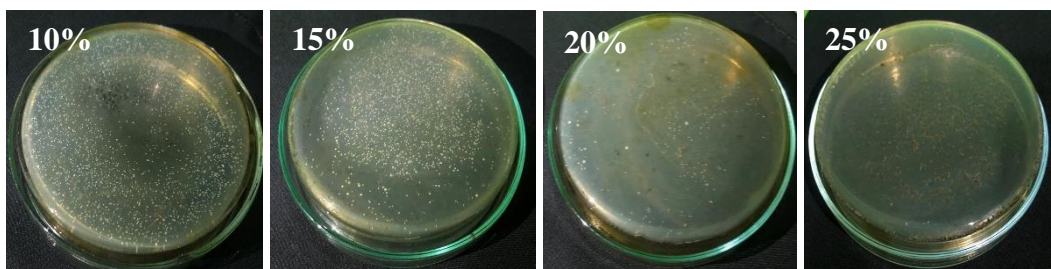
Gambar 13. Hasil Uji KHM Ekstrak n-Heksan Daun Sirih Hutan Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. KHM Terdapat Pada Konsentrasi 5%



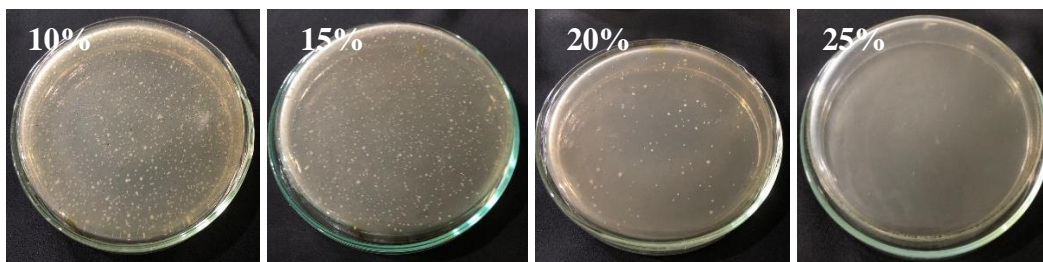
Gambar 14. Hasil Uji KHM Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Hutan Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. KHM Terdapat Pada Konsentrasi 10%



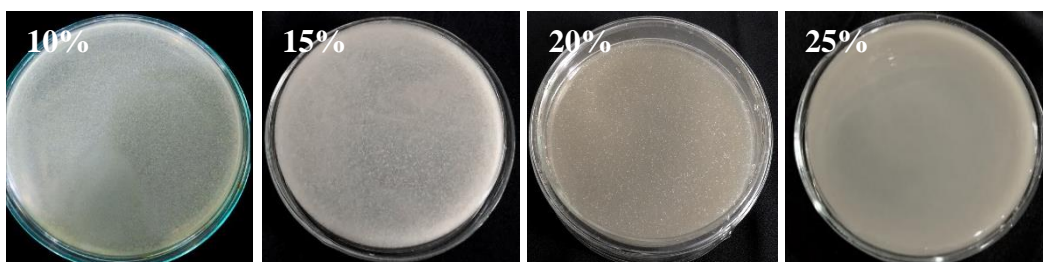
Gambar 15. Hasil Uji KHM Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hutan Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. KHM Terdapat Pada Konsentrasi 10%



Gambar 16. Hasil Uji KHM Ekstrak n-Heksan Daun Sirih Hutan Terhadap Jamur *Candida albicans*. KHM Terdapat Pada Konsentrasi 25%



Gambar 17. Hasil Uji KHM Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Hutan Terhadap Jamur *Candida albicans*. KHM Terdapat Pada Konsentrasi 25%



Gambar 18. Hasil Uji KHM Ekstrak Etanol Daun Sirih Hutan Terhadap Jamur *Candida albicans*. KHM Terdapat Pada Konsentrasi 25%

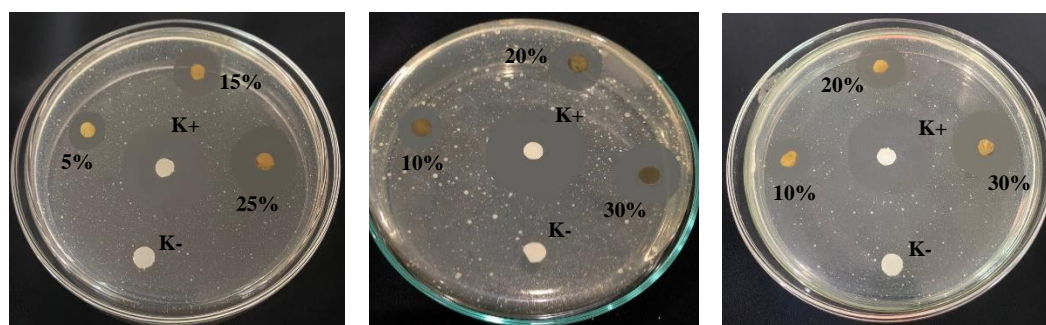
Hasil pengujian KHM terhadap bakteri *S. mutans*, pada ekstrak n-heksan daun sirih hutan dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 2% masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri dan terlihat adanya kekeruhan pada media, dan pada konsentrasi 5% sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya koloni bakteri dan media terlihat bening, sehingga ekstrak n-heksan memiliki nilai KHM yaitu pada konsentrasi 5%. Hasil uji KHM ekstrak etil asetat dan etanol 96% daun sirih hutan dengan konsentrasi 1%, 2% dan 5% menunjukkan masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri, selanjutnya konsentrasi ditingkatkan menjadi 10% sudah menunjukkan adanya daya hambat yang ditandai dengan tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri dan media terlihat bening, sehingga ekstrak etil asetat dan etanol 96% memiliki nilai KHM yang sama yaitu pada konsentrasi 10%.

Hasil pengujian KHM terhadap jamur *C. albicans* pada ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% daun sirih hutan, menunjukkan pada konsentrasi 10%, 15% dan 20% masih terdapat pertumbuhan koloni jamur, dan pada konsentrasi 25% menunjukkan adanya daya hambat karena sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni jamur, sehingga pada konsentrasi 25% adalah nilai KHM dari ekstrak n-heksan dan

etil asetat dan etanol 96% daun sirih hutan. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi pada suatu ekstrak maka pertumbuhan bakteri/jamur semakin rendah. Perbedaan kepolaran pelarut dapat mempengaruhi konsentrasi senyawa aktif terlarut. Konsentrasi senyawa terlarut berpengaruh pada KHM. Pengujian konsentrasi hambat minimum ini digunakan sebagai acuan konsentrasi awal untuk pengujian lebar daerah hambat.

4.6.2 Hasil Pengujian Lebar Daerah Hambat (LDH)

Pengujian LDH dilakukan pada masing-masing ekstrak daun sirih hutan dengan 3 konsentrasi terhadap bakteri *S. mutans* dan jamur *C. albicans* untuk melihat kemampuan aktivitas antimikroba yang paling besar. Pengujian ini dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram, yaitu dengan cara kertas cakram yang telah mengandung larutan uji diletakkan di permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroba. Metode difusi kertas cakram memiliki beberapa kelebihan diantaranya murah, mudah, cepat, dan tidak memiliki alat yang khusus dalam pengujian (Santoso, 2020). Hasil pengujian efektivitas antibakteri dan antijamur dari ekstrak daun sirih hutan terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri dan jamur ditunjukkan dengan adanya area jernih atau bening yang mengelilingi cakram yang disebut dengan zona hambatan (Rahmawati, 2019). Pengujian ini dilakukan terhadap 3 konsentrasi dari masing-masing ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% daun sirih hutan. Kontrol positif (K+) terhadap *S. mutans* digunakan amoksilin dan terhadap *C. albicans* digunakan nistatin, kemudian untuk kontrol negatif (K-) digunakan tween 1%. Hasil pengujian LDH dapat dilihat pada Gambar 19 dan 20.

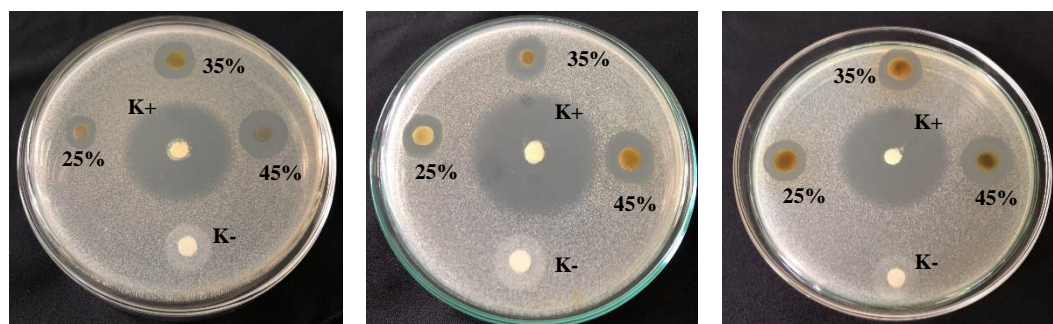


a). n-Heksana

b). Etil Asetat

c). Etanol 96%

Gambar 19. Hasil Uji LDH Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*



a). n-Heksana

b). Etil Asetat

c). Etanol 96%

Gambar 20. Hasil Uji LDH Terhadap Jamur *Candida albicans*

Hasil pengukuran lebar daerah hambat atau zona bening yang terbentuk dari ekstrak daun sirih hutan pada bakteri *S. mutans* dapat dilihat pada Tabel 7. dan jamur *C. albicans* dapat dilihat pada Tabel 8. Pengamatan lebar daerah hambat dari masing-masing ekstrak diukur dengan menggunakan jangka sorong. Zona bening yang terbentuk menandakan adanya daya antimikroba pada larutan uji terhadap bakteri *S. mutans* dan jamur *C. albicans* (Azizah & Antarti, 2019). Klasifikasi kategori nilai LDH berdasarkan pada zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri yaitu < 5 mm dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-20 mm dikategorikan kuat, dan >20 mm dikategorikan sangat kuat (Davis & Stout, 1971 dalam Santoso, 2020). Respon zona hambat yang terbentuk terhadap jamur diklasifikasikan berdasarkan diameter zona bening yaitu <10 mm termasuk dalam kategori lemah; 10-15 mm kategori sedang; 16-20 mm kategori kuat; dan >20 mm masuk dalam kategori sangat kuat (Santoso, 2020). Perhitungan hasil lebar daerah hambat dapat dilihat pada Lampiran 11 dan 12.

Tabel 7. Hasil Pengukuran LDH Terhadap *S. mutans*

Mirkoba	Sampel Ekstrak	Konsentrasi (%)	Rata-rata LDH (mm) ± SD	Kategori
<i>Streptococcus mutans</i>	n-Heksana	5	3,08 ^b ± 0,24	Lemah
		15	4,77 ^d ± 0,21	Lemah
		25	7,69^h ± 0,47	Sedang
		K (+)	11,01 ⁱ ± 0,15	Kuat
		K (-)	0 ^a ± 0,000	Tidak menghambat
		10	3,73 ^c ± 0,06	Lemah
	Etil Asetat	20	5,04 ^e ± 0,10	Sedang
		30	6,78 ^g ± 0,17	Sedang
		K (+)	11,45 ⁱ ± 0,05	Kuat
		K (-)	0 ^a ± 0,000	Tidak menghambat
		10	4,44 ^d ± 0,08	Lemah
		20	5,17 ^f ± 0,07	Sedang
	Etanol 96%	30	7,78^h ± 0,05	Sedang
		K (+)	11,20 ⁱ ± 0,05	Kuat
		K (-)	0 ^a ± 0,000	Tidak menghambat

Tabel 8. Hasil Pengukuran LDH Terhadap *C. albicans*

Mirkoba	Sampel Ekstrak	Konsentrasi (%)	Rata-rata LDH (mm) ± SD	Kategori
<i>Candida albicans</i>	n-Heksana	25	2,55 ^b ± 0,04	Lemah
		35	4,61 ^d ± 0,08	Lemah
		45	6,13 ^f ± 0,10	Lemah
		K (+)	16,00 ^h ± 0,01	Kuat
		K (-)	0 ^a ± 0,000	Tidak menghambat
		25	4,14 ^c ± 0,08	Lemah
	Etil Asetat	35	4,90 ^e ± 0,11	Lemah
		45	6,14 ^f ± 0,10	Lemah
		K (+)	16,20 ^h ± 0,15	Kuat
		K (-)	0 ^a ± 0,000	Tidak menghambat
		25	4,60 ^d ± 0,08	Lemah
		35	5,04 ^e ± 0,03	Lemah
	Etanol 96%	45	7,55^g ± 0,10	Lemah
		K (+)	16,01 ^h ± 0,06	Kuat
		K (-)	0 ^a ± 0,000	Tidak menghambat

Angka diikuti oleh huruf superskrip yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap lebar daerah hambat.

Pengujian LDH terhadap bakteri *S. mutans* pada ekstrak n-heksana konsentrasi larutan uji 5, 15 dan 25% menghasilkan rata-rata zona hambat yang terbentuk berturut-turut yaitu 3,08; 4,77; dan 7,69 mm, serta zona hambat kontrol positif yang diperoleh sebesar 11,01 mm. Hasil pengujian LDH ekstrak n-heksan dengan konsentrasi 5 dan 15% masuk ke dalam kategori kemampuan penghambatan yang lemah karena nilai LDH yang didapat kurang dari 5 mm, pada konsentrasi 25% nilai zona hambat masuk dalam kategori sedang karena nilai LDH berada pada rentang 5-10 mm, sedangkan pada kontrol positif zona hambat yang terbentuk tergolong ke dalam kategori kemampuan daya hambat kuat karena nilai LDH berada pada rentang 10-20 mm. Pengujian LDH ekstrak etil asetat dan etanol 96% menggunakan konsentrasi larutan uji yang sama yaitu 10, 20 dan 30%, hal ini dikarenakan kedua ekstrak tersebut memiliki nilai KHM yang sama, tetapi nilai LDH yang dihasilkan ekstrak etil asetat berbeda dengan ekstrak etanol 96%. Nilai LDH etil asetat yang terbentuk berturut-turut yaitu 3,73; 5,04 dan 6,78 mm dengan zona hambat kontrol positif sebesar 11,45 mm, sedangkan pada ekstrak etanol 96% nilai LDH yang terbentuk berturut-turut yaitu 4,44; 5,17 dan 7,78 mm dengan zona hambat kontrol positif sebesar 11,20 mm. Nilai LDH ekstrak etil asetat dan etanol 96% memiliki kategori kemampuan daya hambat yang sama, pada konsentrasi 10% mempunyai kemampuan penghambatan yang lemah, pada konsentrasi 20 dan 30% kemampuan daya hambat masuk dalam kategori sedang, sedangkan pada kontrol positif zona hambat yang terbentuk memiliki kategori kemampuan daya hambat kuat.

Pada uji LDH terhadap jamur *C. albicans* pada ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% menggunakan konsentrasi uji yang sama yaitu 23, 35 dan 45%, namun pada pengujian LDH, zona hambat ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol yang terbentuk berbeda. Nilai lebar daerah hambat n-heksan yang terbentuk berturut-turut yaitu 2,55; 4,61 dan 6,13 mm dengan zona hambat kontrol positif sebesar 16,00 mm, pada ekstrak etil asetat nilai lebar daerah hambat yang terbentuk berturut-turut yaitu 4,14; 4,90 dan 6,14 mm dengan zona hambat kontrol positif sebesar 16,20 mm dan pada ekstrak etanol 96% didapatkan zona hambat berturut-turut 4,60; 5,04 dan 7,55 mm dengan zona hambat kontrol positif sebesar 16,01

mm. Nilai LDH pada konsentrasi 25, 35 dan 45% memiliki kemampuan daya hambat yang masuk dalam kategori lemah karena nilai LDH kurang dari 10 mm sedangkan pada kontrol positif zona hambat yang dihasilkan memiliki kemampuan daya hambat yang masuk dalam kategori kuat karena nilai LDH berada pada rentang 16-20 mm.

Kontrol positif yang digunakan pada bakteri *S. mutans* adalah amoksisilin 100 ppm. Pemilihan amoksisilin karena merupakan antibiotik turunan amino penisilin yang bersifat bakterisidal untuk mengobati infeksi pada bagian kulit, telinga, saluran kemih, pneumonia, dan faringitis streptokokus yang disebabkan oleh bakteri Gram-negatif dan Gram-positif (Maida dan Lestari, 2019). Mekanisme kerja amoksisilin sebagai antibakteri dengan sifatnya sebagai bakterisidal dan mempunyai spektrum yang luas yaitu mengikat enzim transpeptidase pada membran sitoplasma bakteri yang menyebabkan ketidakmampuan enzim mengkatalisis reaksi transpeptidasi dalam membentuk dinding sel. Hal ini mengakibatkan dinding sel yang terbentuk tidak sempurna dengan tidak adanya ikatan silang dan ketidaksempurnaan peptidoglikon yang terbentuk sehingga dinding sel mudah mengalami kerusakan (Pratiwi, 2017). Pada jamur *C. albicans* digunakan kontrol positif nystatin 100.000 IU. Konversi nistatin berdasarkan *International Standard WHO Expert Committee on Biological Committee on Biological Standardization* (1961) yaitu 1 IU nystatin setara dengan 0,000333 mg dan 100.000 IU/ml yaitu setara dengan 33,3 mg. Penggunaan nistatin sebagai kontrol positif karena sifatnya yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dan ragi, tetapi tidak aktif terhadap bakteri dan protozoa. Mekanisme kerja nistatin adalah dengan cara berikatan dengan sterol membran sel jamur, terutama ergosterol (Yanti, 2016).

Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan tween 80 1% steril menunjukkan tidak adanya aktivitas antimikroba yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram, hal ini sejalan dengan penelitian Wardhani (2012) yang menyatakan bahwa tween tidak mengganggu pertumbuhan dari bakteri yang dapat mengganggu hasil penelitian. Kontrol negatif berfungsi memperlihatkan bahwa pelarut yang digunakan tidak memiliki efek untuk

menghambat pertumbuhan mikroba sehingga aktivitas antimikroba yang dihasilkan murni berasal dari ekstrak yang diuji. Pemilihan tween sebagai kontrol negatif dikarenakan pada saat pembuatan larutan uji dengan beberapa seri konsentrasi ekstrak ketika menggunakan DMSO 1% dan 10% ekstrak tidak dapat melarut atau tercampur pada pelarut polar maupun semipolar dan pada pelarut nonpolar hanya terlarut sebagian sehingga digunakan tween 80 yang merupakan surfaktan akan menyebabkan turunnya tegangan permukaan larutan sehingga meningkatkan proses kelarutan pada saat pembuatan seri konsentrasi (Sari dan Turahman, 2018).

Berdasarkan hasil pengukuran nilai LDH pada masing-masing perlakuan ekstrak daun sirih hutan memperlihatkan bahwa setiap konsentrasi memiliki ukuran diameter zona hambat yang berbeda-beda. Terlihat pada data yang disajikan di Tabel 7. dimana terjadi perbedaan diameter zona hambat seiring dengan meningkatnya konsentrasi yang digunakan pada proses pengujian, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar juga zona daya hambat yang dihasilkan. Menurut Permatasari dkk (2013), salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba yaitu konsentrasi bahan antimikroba. Semakin tinggi bahan antimikroba, maka semakin tinggi pula daya hambat yang terbentuk. Selain itu kemungkinan juga disebabkan adanya perbedaan kecepatan ekstrak berdifusi ataupun konsentrasi senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak (Prescott, 2005).

Data nilai LDH yang didapat pada masing-masing jenis pelarut ekstrak dan variasi konsentrasi terhadap bakteri dan jamur selanjutnya dianalisis menggunakan SPSS[®] statistik 24 untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan antar konsentrasi pada jenis pelarut ekstrak terhadap LDH melalui uji ANOVA *two way* dan hasil yang didapat menunjukkan bahwa nilai signifikansi (Sig.) $0.000 < 0.05$ baik pada uji terhadap bakteri *S.mutans* ataupun jamur *C. albicans*, yang artinya variasi konsentrasi dan jenis pelarut ekstrak berpengaruh terhadap nilai LDH pada *S.mutans* dan *C. albicans*, tabel Anova dapat dilihat pada Lampiran 13 dan 14. Untuk mengetahui jenis pelarut ekstrak dan variasi konsentrasi yang memberikan pengaruh yang sama atau pengaruh yang berbeda pada nilai LDH terhadap mikroba uji, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji Duncan. Uji Duncan digunakan

untuk melihat perlakuan mana yang memiliki efek yang sama atau berbeda dan efek yang terkecil sampai efek yang terbesar antara satu dengan lainnya (Simanjuntak, 2008). Hasil yang diperoleh dari uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa jenis dan konsentrasi ekstrak yang terdapat pada subset yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap nilai LDH, sedangkan konsentrasi dan jenis ekstrak yang terdapat pada subset yang sama memberikan pengaruh yang sama terhadap LDH.

Hasil pengujian uji lanjut Duncan menunjukkan jika nilai rata-rata LDH berada di kolom yang sama menandakan jenis ekstrak daun sirih hutan dan variasi konsentrasi ekstrak memberikan pengaruh yang sama terhadap nilai LDH antibakteri *S. mutans* seperti pada perlakuan ekstrak etanol konsentrasi 10% dan n-heksan konsentrasi 15% karena berada pada kolom yang sama yang artinya memiliki daya hambat antibakteri yang sama. Kemudian berdasarkan uji lanjut Duncan terhadap nilai LDH antijamur *C. albicans* pada perlakuan ekstrak etanol konsentrasi 25% dan ekstrak n-heksan konsentrasi 35% memberikan pengaruh yang sama terhadap daya hambat antijamur *C. albicans*, kemudian ekstrak etil asetat 35% dan ekstrak etanol 35%, dan juga ekstrak n-heksan 45% dan etil asetat 45%. Apabila rata-rata nilai LDH berdasarkan jenis ekstrak dan variasi konsentrasi berada pada kolom yang berbeda menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda terhadap nilai LDH. Analisis data uji Duncan dapat dilihat pada Lampiran 13 dan 14.

Pada hasil uji Duncan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% daun sirih hutan pada konsentrasi 30% dengan rata-rata nilai LDH 7,78 mm merupakan perlakuan terbaik dan paling efektif sebagai antibakteri *S. mutans* dan memiliki pengaruh daya hambat antibakteri yang sama pada perlakuan ekstrak n-heksan daun sirih hutan pada konsentrasi 25% dengan rata-rata nilai LDH sebesar 7,69 mm karena rata-rata nilai LDH yang didapat paling besar dan paling dekat dengan kontrol positif, sedangkan ekstrak etanol 96% pada konsentrasi 45% dengan rata-rata nilai LDH sebesar 7,55 mm merupakan perlakuan terbaik dan yang paling efektif sebagai antijamur *C. albicans*. Hasil daya hambat yang diperoleh pada perlakuan masih lebih kecil dibandingkan dengan daya hambat yang terdapat pada kontrol positif.

Data hasil lebar daerah hambat yang terbentuk memperlihatkan bahwa ketiga jenis ekstrak daun sirih hutan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan pertumbuhan jamur *C. albicans* sehingga daun sirih hutan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dan antijamur. Daya hambat yang terbentuk pada ketiga jenis ekstrak dengan masing-masing konsentrasi dikarenakan adanya senyawa aktif berupa senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun sirih hutan seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur dan yang menjadikannya sebagai agen antibakteri dan antijamur alami. Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan secara kualitatif, flavonoid adalah senyawa yang hanya terkandung didalam ekstrak etanol 96% daun sirih hutan dimana dari hasil penelitian ekstrak tersebut memiliki aktivitas antibakteri *S. mutans* dan antijamur *C. albicans* yang terbaik.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu pertama menghambat sintesis asam nukleat, kedua menghambat fungsi membran sel dengan merusak permeabilitas dinding sel bakteri diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler dan ketiga menghambat metabolisme energi (Hendra *et al*, 2011), flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat (Cushnie *et al*, 2005). Mekanisme aksi senyawa alkaloid sebagai antimikroba, yaitu menghambat esterase dan juga DNA dan RNA polimerase, juga menghambat respirasi sel dan berperan dalam interkalasi DNA (Yanti dkk, 2016). Mekanisme kerja tannin sebagai antimikroba dengan mengkerutkan dinding ataupun membran sel sehingga merusak permeabilitas sel yang menyebabkan sel tidak bisa melangsungkan aktivitas hidup (Arlofa, 2015). Tanin sebagai antijamur akan berkaitan dengan dinding sel jamur yang akan menghambat aktivasi protease dan inaktivasi secara langsung. Dinding sel jamur merupakan bagian pertama yang akan berinteraksi dengan sel inang, oleh sebab itu ketika dinding sel dirusak oleh senyawa tanin maka proses infeksi tidak akan terjadi (Maelissa, 2017). Saponin merupakan senyawa aktif yang juga dapat merusak permeabilitas dinding sel bakteri. Kerusakan membran sel ini dapat mengakibatkan

beberapa komponen penting keluar dari dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat dan nukleotida (Afif dan Amilah, 2017). Senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba yaitu diterpenoid phytol, monoterpenoid linalool, dan triterpenoid saponin (Rupiniasih dkk, 2019). Mekanisme kerja senyawa terpenoid sebagai zat antibakteri dengan melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Wulansari dkk, 2020).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 96% daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) memiliki potensi sebagai antimikroba alami terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan Jamur *Candida albicans*.
2. Ekstrak etanol 96% pada konsentrasi 30% dengan nilai LDH sebesar 7,78 mm merupakan perlakuan terbaik dan lebih efektif sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* kemudian ekstrak etanol 96% konsentrasi 45% dengan nilai LDH sebesar 7,55 mm merupakan perlakuan terbaik dan lebih efektif sebagai antijamur terhadap *Candida albicans*.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap jenis mikroba lainnya.
2. Penelitian lanjutan daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dapat digunakan sebagai alternatif bahan alam sebagai zat antimikroba untuk membuat sediaan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Absor, U. 2006. *Aktivitas Antibakteri Ranting Patah Tulang (Euphorbia tirucalli L.)*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Afif, F. E dan Amilah, S. 2017. Efektivitas Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *STIGMA: J. Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*. 10(1): 12-16.
- Anas, R., Kurniawan, Puspitasari, Y. 2018. Perbedaan Daya Hambat Antibakteri Antara Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (Study Eksperimental Lab di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi UMI 2016). *Jurnal Farmasi As-Syifaa*. Vol 10 (01): 120-125
- Andiarna, F., Hidayati, I. dan Agustina, E. 2020. Pendidikan Kesehatan tentang Penggunaan Antibiotik secara Tepat dan Efektif sebagai Upaya Mengatasi Resistensi Obat. *Journal of Community Engagement and Employment*. Vol. 2(1): 15-22
- Angela, A. 2005. Pencegahan Primer pada Anak Beresiko Karies Tinggi. *Maj.Ked.Gigi (Dental Journal)*. Vol.38 (3): 130-134
- Arlofa, N. 2015. Uji Kandungan Senyawa Fitokimia Kulit Durian Sebagai Bahan AKtif Pembuatan Sabun. *J. Chemtech*. 1(1): 10-22
- Arneti. 2012. Bioaktivitas Ekstrak Buah *Piper aduncum* L. terhadap *Crocidolomia pavonana* F. dan Formulasinya sebagai Insektisida Botani. *Disertasi*. Universitas Andalas.
- Aviany, H. B., & Pujiyanto, S. 2020. Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Berkala Bioteknologi*, 3(2), 24–31.
- Azizah, R., dan Antarti, A. N. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Getah Pelepah Serta Bonggol Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* Dengan Metode Difusi Agar. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(1), 29. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i1.26544>
- Buanasari, dkk. 2019. Potensi Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) Dalam Mengekstrak Senyawa Aktif Dari Bahan Alam. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*. Vol.2 (1)
- Chaiya, A. S., Saraya, W. C., and R. Temsiririrkkul. 2013. Screening for Dental

- Caries: Preventive Activities of Medicinal Plants against *Streptococcus mutans*. *Mahidol Univ J Pharm Sci*. 40(1): 9-17.
- Cushnie, T.P., Tim, L., and Andrew, J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26(3):343-356.
- Damayanti, R., dan Ervilita, R. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol, Etil Asetat Dan N-Heksana Batang *myristica Fragrans*. *Talenta Conference Series: Science and Technology (ST)*, 2(1), 97–100.
<https://doi.org/10.32734/st.v2i1.323>
- Darsana, I. G. O., Besung, I. N. K., Dan Mahatmi, H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *J. Indonesia Medicus Veterinus*. 1(3): 337-351
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- . 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- . 2017. *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- . 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dewatisari, W. F. 2020. Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata prain.*) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Biologi, FST UIN Alauddin Makassar*. 128-132. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>
- Dwicahmi, P. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa (Ait.) Hassk*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae* Secara In Vitro. *J. Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*. 3(1): 1-6
- Evizal, R. 2013. *Tanaman Rempah dan Fitofarmaka*. Bandar Lampung: Lembaga Penelitian Universitas Lampung
- Fatimatuzzahro, N., Prasetya, R. C., & Amilia, W. 2016. Gambaran Perilaku Kesehatan Gigi Anak Sekolah Dasar Di Desa Bangsalsari Kabupaten Jember. *Jurnal IKESMA*. 12(2): 84–90.

- Forssten, Sofia D., Marika B., dan Arthur C. O. 2010. *Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models. Journal Nutrient. Vol. 2.*
- Gunawan, A., Eriawati., dan Zuraidah. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper sp.) Terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans.* Prosiding Seminar Nasional Biotik. 2015. UIN Ar-Raniry
- Gow, N. A. R., and Bhawna Y. 2017. *Microbe Profile: Candida Albicans: A Shape-Changing, Opportunistic Pathogenic Fungus Of Humans.* 163: 1145-1147.
- Hakim, A. R., dan Saputri, R. 2020. Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika.* 6(1): 177–180.
- Hakim, L., dan Ramadhian, M. R. 2015. *Kandidiasis Oral Oral Candidiasis.* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. 4, 53-57
- Hallianah, I. P., Lambui, O. dan Ramadanil. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Chemical Information and Modeling.* Vol. 13 (1): 46-55
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia.* Jakarta: EGC
- Harman, D. T. A., 2013. *Efektivitas Anti Bakteri Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L) terhadap Bakteri Enterococcus faecalis (Penelitian In Vitro).* Makassar: Universitas Hasanudin
- Hartati, M. D. A dan Yasin, Y. 2019. Identifikasi *Candida albicans* pada Wanita Dewasa di Kota Kendari secara Makroskopis dan Mikroskopis. *Medula.* 6(2): hal 2-7
- Hendra R., Ahmad S., Sukari A., Shukor M. Y., Oskoueian, E. 2011. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl fruit. *International Journal Mol Scienties*, XII(6): 3422-3431.
- Hendryani, R., Lutfi, M. dan Hawa, L. C. 2015. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirih Merah Kering (*Piper crocatum*) Dengan Metode Pra-Perlakuan *Ultrasonic Assisted Extraction* (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis.* 3(2): 33–38.
- Inge, S., 2008. *Parasitologi Kedokteran, Edisi ke-4.* Universitas Indonesia. Jakarta
- Irianto, K. 2013. *Mikrobiologi Medis.* Alfabeta: Bandung.

- Ismed, M., Rustam, R., Fauzana, H. 2016. Uji Beberapa Konsentrasi Ekstrak Tepung Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Mortalitas Wereng Coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) Pada Tanaman Padi (*Oryza Sativa* L.). *Jurnal Dinamika Pertanian*. Vol. XXXI (1): 15–20
- Jawetz., M., dan Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Kadek Ni, Y. S., Permatasari, P., dan Sumadewi, U. 2019. Uji Aktivitas Anti Fungi Ekstrak Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Media Sains*. Vol 3 (1): 28-31.
- Kanifah, U., Lutfi, M. dan Susilo, B. 2015. Karakteristik Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Dengan Metode Ekstraksi Non-Thermal Berbantuan Ultrasonik (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol.3 (1)
- Kasminah. 2016. *Aktivitas Rumput Laut (Halymenia durvillei) Dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar Dan Polar*. Skripsi. Universitas Airlangga Surabaya
- Kaur, S.P., Rao, R., Nanda, S., 2011. Amoxicillin: A broad Spectrum Antibiotic. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 3 (3): 30-37
- Khusnul., dan Sri J. M. 2018. *Identifikasi Jamur Candida albicans Pada Karies Gigi Anak di Bawah Umur 10 Tahun Siswa SDN Sariwangi Kabupaten Tasikmalaya*. Prosiding Seminar Nasional dan Seminar Penelitian Kesehatan.
- Kristina, M.C.V., Ari Yusasrini, N.L. dan Yusa, N. M. 2022. Pengaruh Waktu Ekstraksi Dengan Menggunakan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 11(1)
- Kursia, S. dkk. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Indonesia Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 3(2): 72-77
- Leite, M. B., A., Sousa J., Guerra F., Lima E. 2014. *Evaluation of Antifungal Activity and Mechanism of Action of Citral Against Candida albicans*. Hindawi Publishing Corporation.
- Lestari, P. E., 2010. Peran Faktor Virulensi pada Patogenesis Infeksi *Candida albicans*. *Jurnal stomatognatic (J,K,G unej)*. Vol 7(2): 113-114

- Macias-Paz, I. U., Pérez-Hernández, S., Tavera-Tapia, A., Luna-Arias, J. P., Guerra-Cárdenas, J. E., Reyna-Beltrán, E. 2022. *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Revista Argentina De Microbiologia*, xxx. Pp 1-10
- Maida, S., dan Lestari, K. A. P. 2019. Aktivitas Antibakteri Amoksisilin Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Pijar Mipa*, 14(3), 189–191. <https://doi.org/10.29303/jpm.v14i3.1.029>
- Maksum, R. 2009. *Mikrobiologi*. EGC: Jakarta.
- Marsh, P. D and Martin M. V. 2009. *Oral Microbiology*. Elsevier: Oxford.
- Mellani, A., Turangan, A., & Rotinsulu, H. 2017. *Golongan Penisilin Dan Sefalosporin*. 6(3), 277–284.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. VII (2):361-367
- Nova, Clementia. 2016. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Sirih Lengkung (Piper aduncum L.)*. Skripsi. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
- Nugraha, A. W. 2015. *Streptococcus mutans Si Plak Dimana Mana*. Pharm USD: Yogyakarta.
- Orjala, J., Wright A.D., Behreds, H., Folkers, G., Sticher, O., Ruegger, H., Rail, T. 1994. Cytotoxic and Antibacterial Dihydrohalcones from *Piper aduncum*. *J. Nat. Prod.* 57(1):18-26
- Pelczar, Jr. M. J. dan Chan, E. C. S. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Alih Bahasa: Ratna Sri Hadioetomo dkk. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Permatasari, G.A.A., Besung, I.N.K, dan Mahatmi, H. 2013. Daya hambat perasan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *J. Indonesia Medicus Veterinus*, Vol 2 (2). Hal 162-169.
- Prescott, L. M. 2005. *Microbiology*. Mc.Graw-Hill, New York
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Pratiwi, R. H. 2017. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal ProLife*, 4(3), 418–429.

- Putri W.S., Warditiani N.K., Larasanty, L.P.F. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). *Jurnal Farmasi*. Universitas Udayana.
- Rahim, Z. H. A., and Thurairajah, N. 2011. Scanning Electron Microscopic study of *Piper betle* L. leaves extract effect against *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Journal Applied Oral Science*. 19(2): 137-146
- Rahmawati, D. 2019. *Mikrobiologi Farmasi: Dasar-Dasar Mikrobiologi untuk Mahasiswa Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press
- Rasydy, L. O. A., Supriyanta, J., dan Novita, D. 2019. Formulasi Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dalam Bedak Tabur Anti Jerawat Dan Uji Aktivitas Antiacne Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmagazine*. Vol. VI No. 2: 18-26
- Rupiniasih, N., dkk. 2019. Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform, Etil Asetat Bunga Kamboja (*Plumeria alba*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*. 5(2), 173–181. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2019.v5.i2.12572>
- Ryan, K. J., and Ray, C. G. 2004. *Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases* (4th ed). USA: McGraw Hill.
- Safriana, N., Lambui, O. dan Ramadanil. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Journal of Chemical Information and Modeling*. Vol. 13 (1): 46-55
- Santoso, U., Utari, M., dan Marpaung M. P. 2020. Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Ekstrak Batang Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. Vol 20 No. 2: 194 -208
- Sari, G. N. F., dan Turahman, T. 2018. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Manggis (Garcinia mangostana) terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa*. Prosiding Seminar Nasional Unimus. Volume 1: 767-771
- Setyawati, T., Narulita, S., Bahri I.P., dan Rahardjo, G.T., 2015. *A Guide Book to Invasive Alien Plant Species in Indonesia*. Research, Development and Innovation Agency. Ministry of Environment and Forestry
- Shabir, E. S., Rahmadani, A., Meylina, L., dan Kuncoro, H. 2018. Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca*) dan Pengaruh Ekstrak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan Jamur *Candida albicans*.

Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences, 8(November), 314–320. <https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.346>

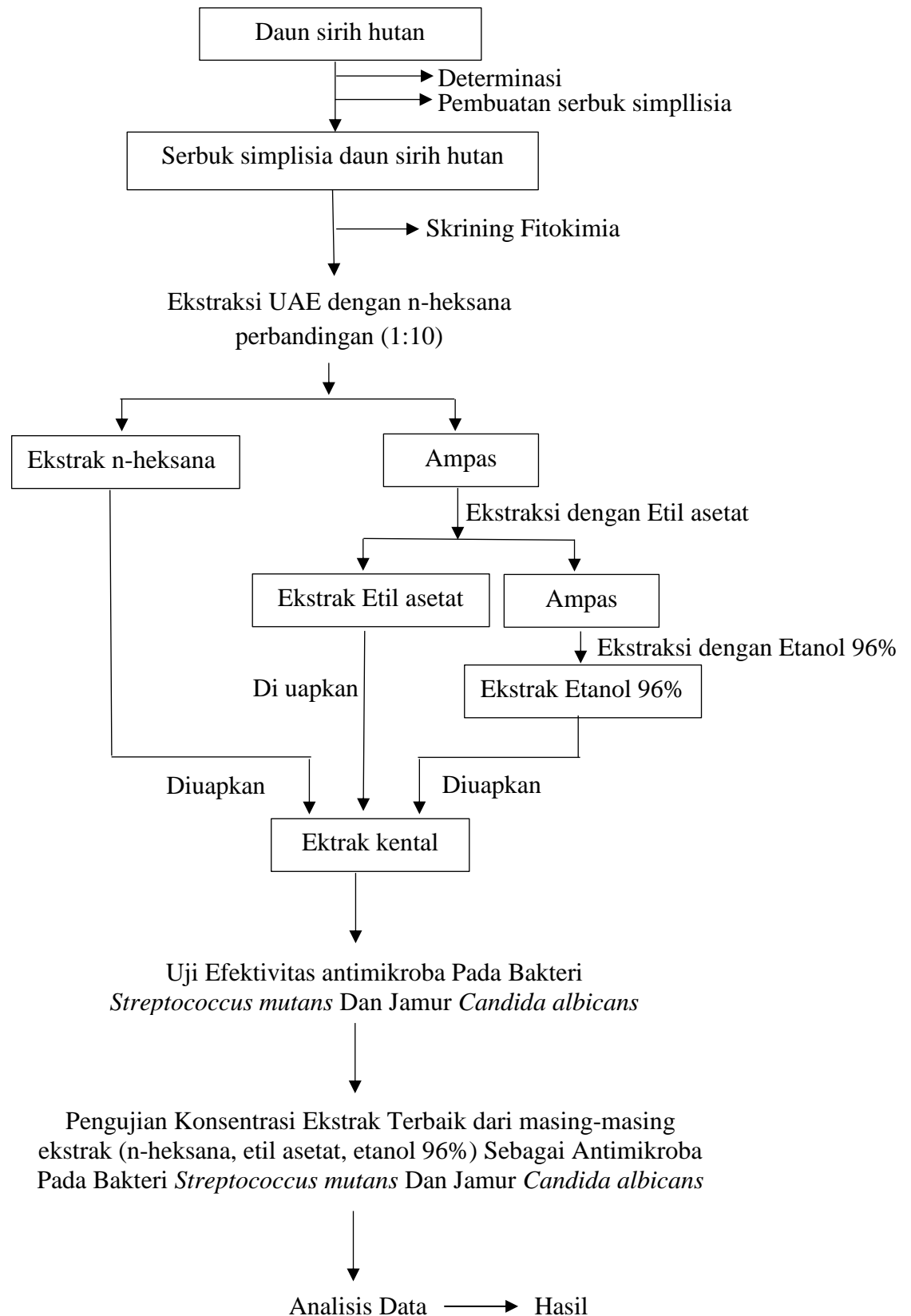
- Sitinjak, S. R. H., Wuisan, J., Mambo, C. 2016. Uji efek ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap kadar gula darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. Vol. 4 (2)
- Sudjadi, 1986. *Metode Pemisahan*. UGM Press: Yogyakarta
- Sudrajat, D. Susanto, dan D. Mintargo. 2011. Bioekologi dan Potensi Senyawa Bioaktif Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) sebagai Sumber Bahan Baku sida Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Mulawarman Scientific*. 10(1) : 63-74.
- Syamsuhidayat, S. S., dan Hutapea, J. R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia* (I). Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G. 1993. *Taksonomi Umum (Dasar-dasar Taksonomi Tumbuhan)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G. & Kaur H., 2011. Phytochemical Screening And Extraction: A Review. *International Pharmaceutical Scientia* 1 (1): 98-106
- Ukhty, N. 2011. *Kandungan Senyawa Fitokimia Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Lamun (Syringodium isoetifolium)*. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor
- Vinatoru, M. 2001. An Overview of the Ultrasonic Assisted Extraction of Bioactive Principles from Herbs. *Ultrasound sonochem*. 8:303-313.
- Wardhani LK, Sulistyani N. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (Anredera scandens (L.) Moq.) terhadap Shigella flexneri beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Wibowo, A. E. 2011. Modifikasi Kimia dan Evaluasi Biologi Senyawa-senyawa Turunan Semisintetik Baru 28,29-Dihydronystatin A1 (S44HP), Hasil Rekayasa Senyawa Antijamur Golongan Polyene Makrolida.
- Wulansari, E. D., Lestari, D., dan Khoirunissa, M. A. 2020. Kandungan Terpenoid dalam Daun Ara (*Ficus carica* L.) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pharmacon STIFAR*. Vol 9(2): 219-225
- Yanti, N., Samingan dan Mudatsir. 2016. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol

Gal Manjakani (*Quercus infectoria*) Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*. Volume 1, Issue 1: hal 1-9

Zhang, Q. W., Lin, L. G., Ye, W. C., 2018. *Techniques for extraction and isolation of natural product: a comprehensive review*. *Chin. Med.* 13, 20.

Zuraidah, Gunawan, A., dan Agustina, E. 2021. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.), Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), dan Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. Vol 12 (2): 63-70

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alur Penelitian

Lampiran 2. Hasil Determinasi Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)



Nomor : B-869/II.6.2/IR.01.02/5/2023 10 Mei 2023
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). **Zahriani**

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Sirih Hutan	<i>Piper aduncum</i> L.	Piperaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah,
 Badan Riset dan Inovasi Nasional



Dr. Ratih Damayanti, S.Hut. M.Si.



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BSI-E, silahkan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

Lampiran 3. Determinasi Bakteri *Streptococcus mutans*

	IPB Culture Collection Departemen Biologi Fakultas MIPA IPB University Jln Agatis, Gedung Perikanan Lt 5/Wing 3 Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680 Tel. /Fax: (0251) 8627378 E-mail: admin@ipbculturecollection.id Web site: https://ipbculturecollection.id	
---	---	---

SURAT PERNYATAAN
No. 135/ IPBCC/04/2023

Bersama surat ini kami divisi Lab Kultur Koleksi IPB Culture Collection menyatakan bahwa isolat bakteri di bawah ini:

Streptococcus mutans

Adalah isolat bakteri murni. Surat keterangan ini berlaku selama satu tahun setelah surat terbit. Demikian surat pernyataan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bogor, 04 April 2023
Kurator Bakteri IPBCC

Dr. Rika Indri Astuti, M.Si

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen Simplisia dan Ekstrak Daun Sirih Hutan

1. Rendemen simplisia serbuk

Sampel	Berat awal (g)	Berat diperoleh (g)	Rendemen (%)
Simplisia	5500	1.125	20,455

Rumus :

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot simplisia serbuk yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia daun sirih hutan}} \times 100 \% \\ &= \frac{1.125 \text{ gram}}{5500 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 20,455 \% \end{aligned}$$

2. Rendemen Ekstrak

Sampel	Ulangan	Bobot simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)	Rata-rata rendemen (%)
Ekstrak n-Heksan	1	300	8,4	2,8000	3,2556 ± 0,3224
	2	300	10,4	3,4667	
	3	300	10,5	3,5000	
Ekstrak Etil Asetat	1	295	15,7	5,3220	5,0661 ± 0,1817
	2	294,8	14,5	4,9186	
	3	294,5	14,6	4,9576	
Ekstrak Etanol 96%	1	282,2	29,4	10,4181	10,1463 ± 0,2633
	2	280,9	27,5	9,7900	
	3	281,5	28,8	10,2309	

Rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot simplisia serbuk daun sirih hutan}} \times 100 \%$$

1). Rendemen Ekstrak n-Heksana

- Ulangan 1 = $\frac{8,4}{300} \times 100\% = 2,8000 \%$
- Ulangan 2 = $\frac{10,4}{300} \times 100\% = 3,4667 \%$
- Ulangan 3 = $\frac{10,5}{300} \times 100\% = 3,5000 \%$

2). Rendemen Ekstrak Etil Asetat

- Ulangan 1 = $\frac{15,7}{295} \times 100\% = 5,3220 \%$
- Ulangan 2 = $\frac{14,5}{294,8} \times 100\% = 4,9186 \%$
- Ulangan 3 = $\frac{14,6}{294,5} \times 100\% = 4,9576 \%$

3). Rendemen Ekstrak Etanol 96%

- Ulangan 1 = $\frac{29,4}{282,2} \times 100\% = 10,4181 \%$
- Ulangan 2 = $\frac{27,5}{280,9} \times 100\% = 9,7900 \%$
- Ulangan 3 = $\frac{28,8}{281,5} \times 100\% = 10,2309 \%$

Lampiran 6. Perhitungan Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sirih Hutannya

Ulangan	Bobot simplisia (g)	Cawan + isi sebelum dipanaskan (g)	Cawan + isi sesudah dipanaskan (g)	Kadar air (%)	Rata-rata (%) ± SD
I	2,0017	53,7864	53,6855	5,4054	5,3237 ± 0,1156
			53,6824		
			53,6801		
			53,6782		
II	2,0069	51,2595	51,1628	5,2419	5,3237 ± 0,1156
			51,1582		
			51,1557		
			51,1543		

Ulangan I

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{\text{Bobot cawan isi sebelum dipanaskan} - \text{Bobot cawan isi setelah dipanaskan}}{\text{Berat awal simplisia serbuk}} \times 100 \% \\ &= \frac{53,7864 - 53,6782}{2,0017} \times 100 \% \\ &= 5,4054 \% \end{aligned}$$

Ulangan II

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{\text{Bobot cawan isi sebelum dipanaskan} - \text{Bobot cawan isi setelah dipanaskan}}{\text{Berat awal simplisia serbuk}} \times 100 \% \\ &= \frac{51,2595 - 51,1543}{2,0069} \times 100 \% \\ &= 5,2419 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air} &= \frac{5,4054 \% + 5,2419 \%}{2} \\ &= 5,3237 \% \end{aligned}$$

(Memenuhi syarat < 10 %)

Lampiran 7. Perhitungan Kadar Air Ekstrak n-Heksana, Etil asetat, Etanol 96% Daun Sirih Hutan

Sampel	Ulangan	Bobott sampel (g)	Cawan + isi sebelum dipanaskan (g)	Cawan + isi sesudah dipanaskan (g)	Kadar air (%)	Rata-rata (%) ± SD
Ekstrak n-Heksana	I	2,0358	56,8276	56,6820	7,5056	7,3104 ± 0,1952
				56,6785		
				56,6764		
	II	2,0112	52,4624	56,6748	7,1152	
				52,3268		
				52,3237		
Ekstrak Etil Asetat	I	2,0079	30,7604	52,3212	6,5890	6,4785 ± 0,1106
				52,3193		
				30,6336		
	II	2,0242	53,4024	30,6311	6,3679	
				30,6292		
				30,6281		
Ekstrak Etanol 96%	I	2,0147	58,3345	53,2807	6,1548	6,0835 ± 0,0713
				53,2780		
				53,2756		
	II	2,0192	53,6481	58,2170	6,0123	
				58,2141		
				58,2120		
				58,2105		
				53,5344		
				53,5311		
				53,5286		
				53,5267		

n-Heksana

$$\begin{aligned} \text{Kadar air I} &= \frac{\text{Cawan isi sebelum dipanaskan} - \text{Cawan isi setelah dipanaskan}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{56,8276 - 56,6748}{2,0358} \times 100 \% \\ &= 7,5056\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air II} &= \frac{\text{Cawan isi sebelum dipanaskan} - \text{Cawan isi setelah dipanaskan}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{52,4624 - 52,3193}{2,0112} \times 100 \% \\ &= 7,1152\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air} &= \frac{7,5056 \% + 7,1152 \%}{2} \\ &= 7,3104 \% \end{aligned}$$

Etil Asetat

$$\begin{aligned} \text{Kadar air I} &= \frac{\text{Cawan isi sebelum dipanaskan} - \text{Cawan isi setelah dipanaskan}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{30,7604 - 30,6281}{2,0079} \times 100 \% \\ &= 6,5890 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air II} &= \frac{\text{Cawan isi sebelum dipanaskan} - \text{Cawan isi setelah dipanaskan}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{53,4024 - 53,2735}{2,0242} \times 100 \% \\ &= 6,3679 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air} &= \frac{6,5890 + 6,3679}{2} \\ &= 6,4785 \% \end{aligned}$$

Etanol 96%

$$\text{Kadar air I} = \frac{\text{Cawan isi sebelum dipanaskan} - \text{Cawan isi setelah dipanaskan}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \%$$

$$= \frac{58,3345 - 58,2105}{2,0147} \times 100 \%$$

$$= 6,1548 \%$$

$$\text{Kadar air II} = \frac{\text{Cawan isi sebelum dipanaskan} - \text{Cawan isi setelah dipanaskan}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \%$$

$$= \frac{53,6481 - 53,5267}{2,0192} \times 100 \%$$

$$= 6,0123 \%$$

$$\text{Rata-rata kadar air} = \frac{6,1548 + 6,0123}{2}$$

$$= 6,0835 \%$$

Lampiran 8. Perhitungan Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sirih Hutan

Ulangan	Bobot simplisia (g)	Bobot krus kosong (g)	Bobot krus isi sebelum dipijarkan (g)	Bobot krus isi sesudah dipijarkan (g)	Kadar abu (%)	Rata-rata (%)
I	2,0020	24,4597	26,4418	24,6725	10,2697	9,1520 ±
				24,6697		
				24,6672		
				24,6653		
II	2,0027	22,6982	24,5891	22,8668	8,0342	0,1178
				22,8631		
				22,8609		
				22,8591		

Ulangan I

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(\text{bobot krus+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot krus kosong})}{\text{bobot simplisia serbuk}} \times 100 \% \\ &= \frac{24,6653 - 24,4597}{2,0020} \times 100 \% \\ &= 10,2697 \% \end{aligned}$$

Ulangan II

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(\text{bobot krus+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot krus kosong})}{\text{bobot simplisia serbuk}} \times 100 \% \\ &= \frac{22,8591 - 22,6982}{2,0027} \times 100 \% \\ &= 8,0342 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar abu} &= \frac{10,2697 \% + 8,0342 \%}{2} \\ &= 9,1520 \% \end{aligned}$$

(Memenuhi syarat < 14 %)

Lampiran 9. Perhitungan Kadar Abu Ekstrak n-Heksana, Etil asetat, Etanol 96%
Daun Sirih Hutan

Sampel	Ulangan	Bobot sampel (g)	Bobot krus kosong (g)	Bobot krus isi sebelum dipijarkan (g)	Bobot krus isi sesudah dipijarkan (g)	Kadar Abu (%)	Rata-rata (%)
Ekstrak n-Heksana	I	2,0045	28,4971	30,5016	28,6879	9,1644	9,0984 ± 0,0661
					28,6850		
					28,6826		
	II	2,0017	25,8349	27,8366	28,6808		
					26,0231		
					26,0204		
Ekstrak Etil Asetat	I	2,0021	26,8493	28,8514	26,0179	8,0365	9,0225 ± 0,0986
					27,0166		
					27,0141		
	II	2,0063	24,5230	26,5293	27,0120		
					24,7315		
					24,7284		
Ekstrak Etanol 96%	I	2,0042	27,3447	29,3489	24,7259	7,9084	7,9888 ± 0,0804
					27,5095		
					27,5071		
	II	2,0089	30,4597	32,4686	27,5050		
					27,5032		
					30,6284		
					10,008		
					5		
					24,7238		
					30,6359	8,0691	
					30,6236		
					30,6218		

n-Heksana

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu I} &= \frac{(\text{bobot krus+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot krus kosong})}{\text{bobot sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{28,6808 - 28,4971}{2,0045} \times 100 \% \\ &= 9,1644 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu II} &= \frac{(\text{bobot krus+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot krus kosong})}{\text{bobot sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{26,0157 - 25,8349}{2,0017} \times 100 \% \\ &= 9,0323 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar abu} &= \frac{9,1644 \% + 9,0323 \%}{2} \\ &= 9,0984 \% \end{aligned}$$

Etil Asetat

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu I} &= \frac{(\text{bobot krus+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot krus kosong})}{\text{bobot sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{27,0102 - 26,8493}{2,0021} \times 100 \% \\ &= 8,0365 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu II} &= \frac{(\text{bobot krus+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot krus kosong})}{\text{bobot sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{24,7238 - 24,5230}{2,0063} \times 100 \% \\ &= 10,0085 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar abu} &= \frac{8,0365 \% + 10,0085 \%}{2} \\ &= 9,0225 \% \end{aligned}$$

Etanol 96 %

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu I} &= \frac{(\text{bobot krus+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot krus kosong})}{\text{bobot sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{27,5032 - 27,3447}{2,0042} \times 100 \% \\ &= 7,9084 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu II} &= \frac{(\text{bobot krus+isi setelah pemanasan}) - (\text{bobot krus kosong})}{\text{bobot sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{30,6218 - 30,4597}{2,0089} \times 100 \% \\ &= 8,0691 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata kadar abu} &= \frac{7,9084 \% + 8,0691 \%}{2} \\ &= 7,9888 \%\end{aligned}$$

Lampiran 10. Pembuatan Larutan Uji dan Larutan Kontrol

1. Larutan stok uji LDH n-heksana, etil asetat dan etanol 96%

$$\text{Konsentrasi stok } 50\% = \frac{5 \text{ gram}}{10 \text{ ml}} \times 100\%$$

- 45%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 50\% = 3 \text{ ml} \cdot 45\%$$

$$= 2,7 \text{ ml}$$

- 40%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 50\% = 3 \text{ ml} \cdot 40\%$$

$$= 2,4 \text{ ml}$$

- 35%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 50\% = 3 \text{ ml} \cdot 35\%$$

$$= 2,1 \text{ ml}$$

- 30%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 50\% = 3 \text{ ml} \cdot 30\%$$

$$= 1,8 \text{ ml}$$

- 25%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 50\% = 3 \text{ ml} \cdot 25\%$$

$$= 1,5 \text{ ml}$$

- 20 %

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 50\% = 3 \text{ ml} \cdot 20\%$$

$$= 1,2 \text{ ml}$$

- 15 %

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$\begin{aligned} V1. 50\% &= 3 \text{ ml} \cdot 15\% \\ &= 0,9 \text{ ml} \end{aligned}$$

- 10 %

$$\begin{aligned} V1 \cdot N1 &= V2 \cdot N2 \\ V1. 50\% &= 3 \text{ ml} \cdot 25\% \\ &= 0,6 \text{ ml} \end{aligned}$$

- 5%

$$\begin{aligned} V1 \cdot N1 &= V2 \cdot N2 \\ V1. 50\% &= 3 \text{ ml} \cdot 25\% \\ &= 0,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

2. Larutan stok uji KHM n-heksana, etil asetat dan etanol 96%

$$\text{Konsentrasi stok } 30\% = \frac{6 \text{ gram}}{20 \text{ ml}} \times 100\%$$

- 25 %

$$\begin{aligned} V1 \cdot N1 &= V2 \cdot N2 \\ V1. 30\% &= 5 \text{ ml} \cdot 25\% \\ &= 4,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

- 20%

$$\begin{aligned} V1 \cdot N1 &= V2 \cdot N2 \\ V1. 30\% &= 5 \text{ ml} \cdot 20\% \\ &= 3,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

- 15%

$$\begin{aligned} V1 \cdot N1 &= V2 \cdot N2 \\ V1. 30\% &= 5 \text{ ml} \cdot 15\% \\ &= 2,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

- 10%

$$\begin{aligned} V1 \cdot N1 &= V2 \cdot N2 \\ V1. 30\% &= 5 \text{ ml} \cdot 10\% \\ &= 1,7 \text{ ml} \end{aligned}$$

- 5%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 25\% = 5 \text{ ml} \cdot 5\% \\ = 0,8 \text{ ml}$$

- 2%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 25\% = 5 \text{ ml} \cdot 2\% \\ = 0,3 \text{ ml}$$

- 1%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 25\% = 5 \text{ ml} \cdot 1\% \\ = 0,2 \text{ ml}$$

- 0,5%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 25\% = 5 \text{ ml} \cdot 0,5\% \\ = 0,1 \text{ ml}$$

3. Larutan Pembanding (Kontrol Positif)

Larutan induk antibiotik amoksisilin 1000 ppm

$$\text{Konsentrasi } 1000 \text{ ppm} = \frac{500 \text{ mg}}{0,5 \text{ L}}$$

- 100 ppm

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Lampiran 11. Perhitungan Hasil Lebar Daerah Hambat Ekstrak Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

Sampel Ekstrak	Konsentrasi	Lebar Daerah Hambat (mm)			Rata-rata (mm)	± SD
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
n-Heksana	5 %	2,82	3,40	3,03	3,08	0,24
	15 %	4,80	4,50	5,00	4,77	0,21
	25 %	8,26	7,70	7,11	7,69	0,47
	K (+)	11,10	10,80	11,14	11,01	0,15
	K (-)	0	0	0	0	0,00
Etil Asetat	10 %	3,79	3,65	3,75	3,73	0,06
	20 %	5,10	5,11	4,90	5,04	0,10
	30 %	7,00	6,78	6,58	6,78	0,17
	K (+)	11,44	11,51	11,40	11,45	0,05
	K (-)	0	0	0	0,00	0,00
Etanol 96%	10 %	4,38	4,55	4,40	4,44	0,08
	20 %	5,18	5,07	5,25	5,17	0,07
	30 %	7,85	7,75	7,75	7,78	0,05
	K (+)	11,25	11,22	11,13	11,20	0,05
	K (-)	0	0	0	0,00	0,00

a. Perhitungan Lebar Daerah Hambat (LDH) Ekstrak n-Heksana

Rumus Perhitungan LDH : $\frac{\text{Diameter daerah hambat} - \text{Diameter kertas cakram}}{2}$

Konsentrasi 5%

1) Ulangan ke 1 : LDH = $\frac{11,63 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 2,82 \text{ mm}$

2) Ulangan ke 2 : LDH = $\frac{12,80 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 3,40 \text{ mm}$

3) Ulangan ke 3 : LDH = $\frac{12,05 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 3,03 \text{ mm}$

Konsentrasi 15%

1) Ulangan ke 1 : LDH = $\frac{15,60 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,80 \text{ mm}$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{15,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,50 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{16,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,00 \text{ mm}$$

Konsentrasi 25%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{22,51 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 8,26 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{21,40 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,70 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{20,22 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,11 \text{ mm}$$

Kontrol Positif

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{28,20 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 11,10 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{27,60 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 10,80 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{28,28 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 11,14 \text{ mm}$$

b. Perhitungan Lebar Daerah Hambat (LDH) Ekstrak Etil Asetat

Rumus Perhitungan LDH : $\frac{\text{Diameter daerah hambat} - \text{Diameter kertas cakram}}{2}$

Konsentrasi 10%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{13,58 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 3,79 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{13,30 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 3,65 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{13,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 3,75 \text{ mm}$$

Konsentrasi 20%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{16,20 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,10 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{16,22 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,11 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{15,80 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,90 \text{ mm}$$

Konsentrasi 30%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{20,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,00 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{19,55 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 6,78 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{19,15 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 6,58 \text{ mm}$$

Kontrol Positif

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{28,88 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 11,44 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{29,02 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 11,51 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{28,80 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 11,40 \text{ mm}$$

c. Perhitungan Lebar Daerah Hambat (LDH) Ekstrak Etanol 96%

$$\text{Rumus Perhitungan LDH : } \frac{\text{Diameter daerah hambat} - \text{Diameter kertas cakram}}{2}$$

Konsentrasi 10%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{14,75 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,38 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{15,10 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,55 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{14,80 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,40 \text{ mm}$$

Konsentrasi 20%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{16,35 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,18 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{16,14 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,07 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{16,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,25 \text{ mm}$$

Konsentrasi 30%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{21,70 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,85 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{21,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,75 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{21,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,75 \text{ mm}$$

Kontrol Positif

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{28,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 11,25 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{28,44 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 11,22 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{28,25 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 11,13 \text{ mm}$$

Lampiran 12. Perhitungan Hasil Lebar Daerah Hambat Ekstrak Terhadap Jamur *Candida albicans*

Sampel Ekstrak	Konsentrasi	Lebar Daerah Hambat (mm)			Rata-rata (mm)	± SD
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
n-Heksana	25 %	2,50	2,56	2,60	2,55	0,04
	35 %	4,50	4,63	4,70	4,61	0,08
	45 %	6,25	6,15	6,00	6,13	0,10
	K(+)	15,98	16,00	16,01	16,00	0,01
	K (-)	0	0	0	0	0,00
Etil Asetat	25 %	4,25	4,10	4,08	4,14	0,08
	35 %	4,95	4,75	5,00	4,90	0,11
	45 %	6,00	6,25	6,17	6,14	0,10
	K (+)	16,40	16,13	16,06	16,20	0,15
	K (-)	0	0	0	0	0,00
Etanol 96%	25 %	4,61	4,70	4,50	4,60	0,08
	35 %	5,00	5,08	5,05	5,04	0,03
	45 %	7,63	7,60	7,41	7,55	0,10
	K (+)	15,93	16,06	16,05	16,01	0,06
	K (-)	0	0	0	0	0,00

a. Perhitungan Lebar Daerah Hambat (LDH) Ekstrak n-Heksana

Rumus Perhitungan LDH : $\frac{\text{Diameter daerah hambat} - \text{Diameter kertas cakram}}{2}$

Konsentrasi 20%

1) Ulangan ke 1 : LDH = $\frac{11,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 2,50 \text{ mm}$

2) Ulangan ke 2 : LDH = $\frac{11,12 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 2,56 \text{ mm}$

3) Ulangan ke 3 : LDH = $\frac{11,20 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 2,60 \text{ mm}$

Konsentrasi 30%

1) Ulangan ke 1 : LDH = $\frac{15,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,50 \text{ mm}$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{15,26 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,63 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{15,40 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,70 \text{ mm}$$

Konsentrasi 40%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{18,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 6,25 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{18,30 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 6,15 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{18,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 6,00 \text{ mm}$$

Kontrol Positif

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{37,95 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 15,98 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{38,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 16,00 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{38,02 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 16,01 \text{ mm}$$

b. Perhitungan Lebar Daerah Hambat (LDH) Ekstrak Etil Asetat

Rumus Perhitungan LDH : $\frac{\text{Diameter daerah hambat} - \text{Diameter kertas cakram}}{2}$

Konsentrasi 20%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{14,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,25 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{14,20 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,10 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{14,15 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,08 \text{ mm}$$

Konsentrasi 30%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{15,90 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,95 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{15,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,75 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{16,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,00 \text{ mm}$$

Konsentrasi 40%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{18,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 6,00 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{18,50 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 6,25 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{18,33 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 6,17 \text{ mm}$$

Kontrol Positif

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{38,80 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 16,40 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{38,25 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 16,13 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{38,12 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 16,06 \text{ mm}$$

c. Perhitungan Lebar Daerah Hambat (LDH) Ekstrak Etanol 96%

Rumus Perhitungan LDH : $\frac{\text{Diameter daerah hambat} - \text{diameter kertas cakram}}{2}$

Konsentrasi 25%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{15,22 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,61 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{15,40 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,70 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{15,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 4,50 \text{ mm}$$

Konsentrasi 35%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{16,00 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,00 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{16,15 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,08 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{16,10 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 5,05 \text{ mm}$$

Konsentrasi 45%

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{21,25 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,63 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{21,20 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,60 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{20,82 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 7,41 \text{ mm}$$

Kontrol Positif

$$1) \text{ Ulangan ke 1 : LDH} = \frac{37,85 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 15,93 \text{ mm}$$

$$2) \text{ Ulangan ke 2 : LDH} = \frac{38,12 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 16,06 \text{ mm}$$

$$3) \text{ Ulangan ke 3 : LDH} = \frac{38,10 \text{ mm} - 6 \text{ mm}}{2} = 16,05 \text{ mm}$$

Lampiran 13. Hasil Uji Analisis Data Statistik *Streptococcus mutans*

1) Uji Anova

Between-Subjects Factors			
		Value Label	N
Jenis Pelarut	1	n-heksan	15
	2	etil asetat	15
	3	etanol 96%	15
Konsentrasi	1	5%	3
	2	10%	6
	3	15%	3
	4	20%	6
	5	25%	3
	6	30%	6
	7	K+	9
	8	K-	9

Pada output Between-Subject Factors terlihat untuk variabel jenis pelarut terdapat 3 kategori, sedangkan variable konsentrasi terdapat 8 level kategori dalam pengujian antibakteri *S. mutans*.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: LDH *S.mutans*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	634.949 ^a	14	45.354	1123.786	.000
Intercept	1250.735	1	1250.735	30991.174	.000
Jenis Pelarut	.856	2	.428	10.600	.000
Konsentrasi	631.860	7	90.266	2236.636	.000
Pelarut * Konsentrasi	1.711	5	.342	8.480	.000
Error	1.211	30	.040		
Total	1985.884	45			
Corrected Total	636.160	44			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

- **Hipotesis:**

- **Jenis Pelarut**

- H1 = Ada pengaruh jenis pelarut terhadap LDH

- H0 = Tidak ada pengaruh jenis pelarut terhadap LDH

- **Konsentrasi**

- H1 = Ada pengaruh konsentrasi terhadap LDH

- H0 = Tidak ada pengaruh konsentrasi terhadap LDH

- **Interaksi**

- H1 = Ada pengaruh interaksi antara jenis pelarut dengan konsentrasi terhadap LDH

- H0 = Tidak ada pengaruh interaksi antara jenis pelarut dengan konsentrasi terhadap LDH

- **Taraf nyata (α) = 0,05**

- **Kriteria keputusan**

- Tolak H0 atau terima H1, jika nilai Sig. < 0.05

- Terima H0 atau tolak H1, jika nilai Sig. > 0.05

Kesimpulan hasil output Test of Between-Subject Effects menunjukkan:

- a) Pada jenis pelarut menunjukkan nilai (Sig.) = 0.000 < 0.05 sehingga keputusan yang diambil adalah tolak H0 terima H1 yang berarti terdapat pengaruh jenis pelarut terhadap lebar daerah hambat *S. mutans*.
- b) Pada konsentrasi menunjukkan nilai (Sig.) = 0.000 < 0.05 sehingga keputusan yang diambil adalah tolak H0 terima H1 artinya terdapat pengaruh dari tingkat konsentrasi terhadap lebar daerah hambat *S. mutans*.
- c) Pada interaksi menunjukkan nilai (Sig.) = 0.000 < 0.05 sehingga keputusan yang diambil adalah tolak H0 terima H1 yang berarti terdapat pengaruh interaksi antara jenis pelarut dan tingkat konsentrasi terhadap lebar daerah hambat *S. mutans*.

2) Uji Duncan

LDH *S.mutans*

Duncan^{a,b}

Interaksi	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
(K-) n-Heksan	3	.0000								
(K-) Etil Asetat	3	.0000								
(K-) Etanol	3	.0000								
n-Heksan 5%	3		3.0833							
Etil Asetat 10%	3			3.7300						
Etanol 10%	3				4.4433					
n-Heksan 15%	3				4.7667					
Etil Asetat 20%	3					5.0367				
Etanol 20%	3						5.1667			
Etil Asetat 30%	3							6.7867		
n-Heksan 25%	3								7.6900	
Etanol 30%	3								7.7833	
(K+) n-Heksan	3									11.0133
(K+) Etanol	3									11.2000
(K+) Etil Asetat	3									11.4500
Sig.		1.000	1.000	1.000	.058	.110	.434	1.000	.574	.264

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = 0,05.

Berdasarkan output uji Duncan terhadap *S. mutans* menunjukkan ekstrak etanol 96% daun sirih hutan pada konsentrasi 30% paling efektif sebagai antibakteri *S. mutans* yang memiliki pengaruh yang sama dengan ekstrak n-heksana pada konsentrasi 25% karena rata-rata nilai LDH paling besar dan mendekati kontrol positif.

Lampiran 14. Hasil Uji Analisis Data Statistik *Candida albicans*

1) Uji Anova

		Value Label	N
Pelarut	1	n-heksan	15
	2	etil asetat	15
	3	etanol 96%	15
Konsentrasi	1	25%	9
	2	35%	9
	3	45%	9
	4	K+	9
	5	K-	9

Pada output Between-Subject Factors terlihat untuk variabel jenis pelarut terdapat 3 kategori, sedangkan variabel konsentrasi terdapat 5 level kategori dalam pengujian antijamur *C. albicans*.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: LDH *C.albicans*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1304.799 ^a	14	93.200	10378.607	.000
Intercept	1762.691	1	1762.691	196290.744	.000
Pelarut	4.601	2	2.301	256.181	.000
Konsentrasi	1293.514	4	323.378	36010.962	.000
Pelarut * Konsentrasi	6.684	8	.835	93.037	.000
Error	.269	30	.009		
Total	3067.759	45			
Corrected Total	1305.068	44			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

- **Hipotesis:**

- **Jenis Pelarut**

- H1 = Ada pengaruh jenis pelarut terhadap LDH

- H0 = Tidak ada pengaruh jenis pelarut terhadap LDH

- **Konsentrasi**

- H1 = Ada pengaruh konsentrasi terhadap LDH

- H0 = Tidak ada pengaruh konsentrasi terhadap LDH

- **Interaksi**

- H1 = Ada pengaruh interaksi antara jenis pelarut dengan konsentrasi terhadap LDH

- H0 = Tidak ada pengaruh interaksi antara jenis pelarut dengan konsentrasi terhadap LDH

- **Taraf nyata (α) = 0,05**

- **Kriteria keputusan**

- Tolak H0 atau terima H1, jika nilai Sig. < 0.05

- Terima H0 atau tolak H1, jika nilai Sig. > 0.05

Kesimpulan hasil output Test of Between-Subject Effects menunjukkan:

- a) Pada jenis pelarut menunjukkan nilai (Sig.) = 0.000 < 0.05 sehingga keputusan yang diambil adalah tolak H0 terima H1 yang berarti terdapat pengaruh jenis pelarut terhadap lebar daerah hambat *C. albicans*.
- b) Pada konsentrasi menunjukkan nilai (Sig.) = 0.000 < 0.05 sehingga keputusan yang diambil adalah tolak H0 terima H1 artinya terdapat pengaruh dari tingkat konsentrasi terhadap lebar daerah hambat *C. albicans*.
- c) Pada interaksi menunjukkan nilai (Sig.) = 0.000 < 0.05 sehingga keputusan yang diambil adalah tolak H0 terima H1 yang berarti terdapat pengaruh interaksi antara jenis pelarut dan tingkat konsentrasi terhadap lebar daerah hambat *C. albicans*.

2) Uji Duncan

LDH *C. albicans*

Duncan^{a,b}

Interaksi	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
(K-) n-Heksan	3	.0000							
(K-) Etil Asetat	3	.0000							
(K-) Etanol	3	.0000							
n-Heksan 25%	3		2.5533						
Etil Asetat 25%	3			4.1433					
Etanol 25%	3				4.6033				
n-Heksan 35%	3				4.6100				
Etil Asetat 35%	3					4.9000			
Etanol 35%	3					5.0433			
n-Heksan 45%	3						6.1333		
Etil Asetat 45%	3						6.1400		
Etanol 45%	3							7.5467	
(K+) n-Heksan	3								15.9967
(K+) Etanol	3								16.0133
(K+) Etil Asetat	3								16.1967
Sig.		1.000	1.000	1.000	.932	.074	.932	1.000	.831

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = 0,05.

Berdasarkan output uji Duncan terhadap *C. albicans* menunjukkan ekstrak etanol 96% daun sirih hutan pada konsentrasi 45% paling efektif sebagai antijamur *C. albicans* karena rata-rata nilai LDH paling besar dan mendekati kontrol positif.