

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) DAN RIMPANG KUNYIT (*Curcuma
longa* L.) TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes***

SKRIPSI

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

Oleh :

**VINA DWI ANANDA
066119150**



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

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*

Nama : Vina Dwi Ananda

NPM : 066119150

Program Studi : Farmasi

Skripsi ini telah disetujui dan disahkan

Bogor, Desember 2023

Menyetujui,

Pembimbing Pendamping



(Usep Suhendar, M.Si.)

Pembimbing Utama



(Fitria Dewi Sulistiyono, M.Si.)

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



(apt. Dra. Ike Yulia W, 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 dikeudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, Desember 2023



Vina Dwi Ananda

**PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER
INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Vina Dwi Ananda

NPM : 066119150

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir 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 atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Desember 2023



Vina Dwi Ananda

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillah dengan mengucapkan alhamdulillah sujud syukur kepada Allah Subhanahu Wata'ala atas karunia serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga keberhasilan ini menjadi satu langkah awal menuju masa depan dalam meraih cita-cita.

Dengan ini saya persembahkan karya tulis ini untuk Bapak dan Mama tercinta, terimakasih atas kasih sayang yang berlimpah, terimakasih juga atas perjuangan yang luar biasa dan limpahan doa yang tak berkesudahan sehingga saya bisa sampai di tahap ini. Kepada kakak tercinta yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan fisik, mental dan finansial dan segala hal yang telah diberikan.

Terimakasih yang tak terhingga untuk dosen pembimbing saya yaitu ibu Fitria Dewi Sulistiyono, M.Si. dan Bapak Usep Suhendar, M.Si. yang telah memberikan arahan, masukan yang sangat bermanfaat untuk saya dan sudah meluangkan waktunya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

Terimakasih saya ucapkan untuk teman-teman seperjuangan Erlan Firmansyah, Gita Almaida, Silpi, Fitriani, Nazwa Nabila, Linda Lestari, Diana, Elvira, Cece Diah, Siti, Latifah, Sekar yang sudah menemani, memberi masukan, memberi kebahagiaan, membuat memori berharga sehingga masa kuliah ini menjadi lebih berarti. Terimakasih atas Support kalian yang luar biasa.

Terakhir saya apresiasi kepada diri sendiri karena telah bertanggungjawab untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terimakasih karena telah berusaha dan tidak menyerah.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur ke hadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa, karena kasih dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*”**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salahsatu syarat untuk mencapai gelar Sarjana pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pakuan, Bogor.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyelesaian penelitian ini tidak terlepas dari dukungan, dan bimbingan dari banyak pihak, karena itu penulis mengucapkan terima kasih dengan tulus kepada :

1. Ibu Fitria Dewi Sulistiyono, M.Si. selaku Pembimbing Utama dan Bapak Usep Suhendar, M.Si. selaku Pembimbing Pendamping.
2. Dekan dan Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
3. Seluruh staff Pengajar dan karyawan di lingkungan Program Studi Farmasi Universitas Pakuan.
4. Ayah, Ibu dan Kakak Tercinta.
5. Teman – teman yang senantiasa memberikan dukungan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, maka dari itu penulis menerima kritik dan saran yang membangun serta penulis berharap karya tulis ini dapat bermanfaat sebagai pemberi informasi bagi pembaca.

Bogor, 15 Desember 2023

Penulis

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Vina Dwi Ananada, Lahir di Selawangi, 27 Oktober 2000. Penulis bertempat tinggal di Selawangi Kabupaten Bogor. Penulis memulai pendidikan formal pada tahun 2007 di SDN Tapos, Selawangi Kabupaten Bogor. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan tingkat menengah di MTSN 4 Bogor. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di MAN 2 Cianjur. Pada tahun 2019 penulis melanjutkan pendidikan tingkat sarjana S1 di program studi farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan dan dinyatakan lulus pada 25 Januari 2024. Selama duduk di bangku perguruan tinggi penulis pernah menjadi anggota Himpunan Mahasiswa Farmasi (HIMAFAR) di Universitas Pakuan. Pada Februari 2024 penulis menyelesaikan penelitian tugas akhir yang berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*”** dan dinyatakan lulus sebagai Sarjana Farmasi pada tahun 2024.

RINGKASAN

VINA DWI ANANDA, 066119150. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. Pembimbing : Fitria Dewi Sulistiyono dan Usep Suhendar.

Infeksi jaringan kulit dapat disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri *Propionibacterium acnes* yang dapat memicu timbulnya jerawat. Penggunaan antibiotik sebagai obat jerawat dalam jangka panjang dan dosis kurang tepat dapat meningkatkan resistensi dan resiko efek samping. Pengurangan resistensi terhadap antibiotik diperlukan pengobatan alternatif seperti menggunakan bahan alam yang mengandung senyawa antibakteri. Salahsatunya adalah daun sirih hijau dan rimpang kunyit.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri dan menentukan konsentrasi yang efektif dari kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang kunyit terhadap *P. acnes*. aktivitas antibakteri ditentukan dengan menguji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Diameter Daya Hambat (DDH). Uji KHM dilakukan menggunakan metode dilusi padat dan uji DDH menggunakan metode difusi cakram. Konsentrasi yang digunakan untuk uji KHM pada ekstrak tunggal daun sirih hijau yaitu 3, 5, 7, 9 dan 11% dan rimpang kunyit yaitu 5, 10, 15 dan 20%. Hasil KHM yang diperoleh kemudian menjadi acuan awal uji DDH. Uji DDH dilakukan 7 perlakuan diantaranya klindamisin sebagai kontrol positif, DMSO 10% sebagai kontrol negatif, ekstrak tunggal daun sirih hijau 11%, ekstrak tunggal rimpang kunyit 15% dan kombinasi ekstrak dengan perbandingan 2:1, 1:2 dan 1:1.

Hasil pengujian KHM daun sirih hijau dapat menghambat *P. acnes* pada konsentrasi 11% dan rimpang kunyit pada konsentrasi 15%. Pada uji DDH kombinasi ekstrak daun sirih hijau P3 (2:1) memberikan DDH terbaik dengan rata rata DDH sebesar $16,76 \pm 2,1385$ mm dengan kategori intermediate.

Kata kunci: *P.acnes*, Antibakteri, Daun sirih hijau, Rimpang kunyit.

SUMMARY

VINA DWI ANANDA, 066119150. Antibacterial Activity Test of Combination of Ethanolic Extract of Betel leaves (*Piper betle* L.) and Turmeric (*Curcuma longa* L.) Against *Propionibacterium acnes*.

Supervised by Fitria Dewi Sulistiyono and Usep Suhendar

Skin tissue infections can be caused by microorganisms such as *Propionibacterium acnes*, which can trigger acne. Use of antibiotics as Acne medication in the long term and inappropriate dosage can increase resistance and risk of side effects. They are required for treatment with other alternatives, such as natural ingredients containing antibacterial compounds, to reduce antibiotic resistance. One of them is leaves green betel and turmeric rhizome.

This study aims to determine the antibacterial activity and the effective concentration of a combination of green betel leaf extract and turmeric rhizome against *P. acnes* by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Diameter of Inhibitory Power (DDH). The MIC test was carried out using the solid dilution method, and the DDH test used the disc diffusion method. The concentrations used for the MIC test on single extracts of green betel leaves were 3, 5, 7, 9, and 11%, and turmeric rhizomes, namely 5, 10, 15, and 20%. The MIC results obtained then become the initial reference for the DDH test. The DDH test was carried out in 7 treatments, including clindamycin as a positive control, DMSO 10% as a negative control, a single extract of green betel leaves at 11%, a single section of turmeric rhizome at 15%, and a combination of quotes with a ratio of 2:1, 1:2 and 1:1.

The MIC test results show that green betel leaves can inhibit *P. acnes* at a concentration of 11% and turmeric rhizome at a concentration of 15%. In the DDH test, the combination of green betel leaf extract P3 (2:1) the best DDH with an average DDH of 16.76 ± 2.1385 mm in the intermediate category.

Keywords: *P. acnes*, Antibacterial, Green betel leaf, Turmeric rhizome.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	iii
PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Hipotesis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Daun Sirih Hijau.....	4
2.1.1 Morfologi Daun Sirih Hijau	4
2.1.2 Kandungan dan Manfaat Daun Sirih Hijau	4
2.2 Rimpang Kunyit	5
2.2.1 Morfologi Rimpang Kunyit.....	5
2.2.2 Kandungan dan Manfaat Rimpang Kunyit.....	5
2.3 Ekstraksi	6
2.3.1 Pengertian Ekstraksi dan Ekstrak.....	6
2.3.2 Maserasi	6
2.4 Etanol 96%	7

2.5 <i>Propionibacterium acnes</i>	7
2.6 Antibakteri.....	8
2.6.1 Definisi Antibakteri.....	8
2.6.2 Uji Aktivitas Antibakteri.....	9
2.7 Klindamisin.....	10
BAB III METODE KERJA.....	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	11
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	11
3.2.1 Alat Penelitian.....	11
3.2.2 Bahan Penelitian.....	11
3.3 Metode Penelitian.....	11
3.3.1 Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman.....	11
3.3.2 Preparasi Sampel Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit.....	12
3.3.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit.....	12
3.3.4 Uji Karakteristik Simplisia dan Ekstrak.....	13
3.3.4.1 Penetapan Kadar Air.....	13
3.3.4.2 Penetapan Kadar Abu.....	13
3.3.5 Identifikasi Senyawa Fitokimia.....	13
3.3.5.1 Uji Alkaloid.....	13
3.3.5.2 Uji Flavonoid.....	14
3.3.5.3 Uji Terpenoid.....	14
3.3.5.4 Uji Tanin.....	14
3.3.5.5 Uji Saponin.....	14
3.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri.....	15
3.3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	15
3.3.6.2 Penyiapan Media Bakteri.....	15
3.3.6.3 Pembuatan Media Agar Miring.....	16
3.3.6.4 Peremajaan Bakteri Uji.....	16
3.3.6.5 Pembuatan Larutan Standar Mc Farland.....	16
3.3.6.6 Pembuatan dan Pengenceran Suspensi Bakteri Uji.....	16
3.3.6.7 Pembuatan Larutan Uji KHM.....	17

3.3.6.8 Pembuatan Larutan Pembanding	17
3.3.6.9 Penyiapan Kertas Cakram	18
3.3.7 Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum.....	18
3.3.8 Penetapan Diameter Daya Hambat	18
3.3.9 Analisis Data	20
BAB I HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1 Determinasi Tanaman	21
4.2 Hasil Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit.....	21
4.3 Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit.....	22
4.4 Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit	23
4.5 Hasil Penetapan Kadar Abu Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit	24
4.6 Hasil Identifikasi Senyawa fitokimia	24
4.7 Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	26
4.8 Hasil Uji Diameter Daya Hambat (DDH)	28
4.9 Hasil Analisis Data	31
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	4
2. Rimpang Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L.)	5
3. <i>Propionibacterium acnes</i>	8
4. Letak Kertas Cakram Pada Media Agar	20
5. Serbuk Simplisia Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit	22
6. Ekstrak Kental Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit dengan Metode Maserasi	23
7. Hasil Uji KHM Ekstrak Daun Sirih Hijau Terhadap Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	26
8. Hasil Uji KHM Ekstrak Rimpang Kunyit Terhadap Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	27
9. Hasil Uji Diameter Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit	28

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kategori Zona Hambat	10
2. Perlakuan Uji Diameter Daya Hambat	19
3. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit	23
4. Hasil Penetapan Kadar Abu Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit	24
5. Hasil Uji Identifikasi Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau	25
6. Hasil Uji Identifikasi Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Rimpang Kunyit.....	25
7. Hasil Rata – Rata Diameter Daya Hambat	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Kerja Penelitian	38
2. Hasil Determinasi Tanaman	39
3. <i>Certificate of Analys Propionibacterium acnes</i>	40
4. <i>Certificate of Analys Media BHIA</i>	41
5. Hasil Identifikasi Fitokimia.....	42
6. Alat yang digunakan dalam penelitian	44
7. Perhitungan Rendemen Simplisia Serbuk dan Ekstrak	45
8. Perhitungan Kadar Air Simplisia Serbuk dan Ekstrak	46
9. Perhitungan Kadar Abu Simplisia Serbuk dan Ekstrak.....	50
10. Perhitungan Larutan Uji Konsentrasi Hambat Minimum	54
11. Perhitungan Larutan Pembanding	55
12. Perhitungan Larutan Uji Diameter Daya Hambat	56
13. Perhitungan Rata - Rata Hasil Diameter Daya Hambat	57
14. Analisis Data Diameter Daya Hambat (DDH)	59

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jerawat merupakan infeksi jaringan kulit yang banyak diderita oleh laki - laki dan perempuan dengan prevalansi tertinggi pada usia muda (16-25 tahun). Jerawat merupakan penyakit peradangan kronis pada kelenjar *pilosebacea* yang ditandai dengan munculnya komedo, papula, pustule dan nodul (Linuwih *et al.*, 2015). Faktor utama penyebab munculnya jerawat adalah peningkatan produksi sebum pada kulit, pelepasan keratinosit dan pertumbuhan bakteri pada saluran *pilosebacea* yang secara alami terdapat pada kulit normal (Movita, 2013). *P. acnes* merupakan bakteri anaerob gram positif yang merupakan flora normal pada kulit bakteri ini berperan dalam pembentukan jerawat (Desbois & Lawlor, 2013).

Antibakteri merupakan suatu zat yang berfungsi untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Obat antibakteri yang digunakan untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh aktivitas suatu jenis bakteri biasanya diperoleh dari hasil sintesis kimia yang dikenal sebagai antibiotik. Penggunaan antibiotik sebagai obat jerawat dalam jangka panjang dan dosis kurang tepat dapat meningkatkan resistensi dan resiko efek samping. Di Eropa resistensi *P. acnes* terhadap eritromisin dan klindamisin mengalami peningkatan sehingga mengakibatkan pengobatan antibiotik kurang efektif dan penderita semakin sulit diobati (Madelina & Sulistyaningsih, 2018).

Salahsatu alternatif yang dapat digunakan untuk meminimalkan resistensi dan efek samping penggunaan antibiotik adalah pemanfaatan tanaman yang memiliki senyawa antibakteri salahsatunya yaitu daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Daun sirih hijau mengandung beberapa senyawa aktif yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan minyak atsiri betephenol dan kavikol yang berperan sebagai agen antibakteri (Patil *et al.*, 2015). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Amanda (2022), Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diekstraksi dengan etanol 96% dengan metode maserasi menunjukkan KHM terhadap *P. acnes* pada konsentrasi

9% dan pada uji LDH ekstrak daun sirih hijau menunjukkan adanya zona hambat pada konsentrasi 9% sebesar 4,3 mm.

Selain daun sirih hijau, rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) juga memiliki sifat sebagai antibakteri. Kandungan yang terdapat dalam rimpang kunyit antara lain minyak atsiri, senyawa kurkuminoid, dan senyawa turunan lainnya. Komponen tersebut menjadikan kunyit menjadi tanaman obat yang memiliki sifat antibakteri (Partomuan, 2012). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Cahyani *et al.*, (2020), Rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) yang diekstraksi dengan etanol 96% dengan metode maserasi menunjukkan KHM terhadap *P. acnes* pada konsentrasi 15% dan pada uji LDH ekstrak rimpang kunyit menunjukkan adanya zona hambat pada konsentrasi 15% sebesar 11,35 mm.

Sukandar *et al.*, (2014) melakukan penelitian aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dengan mengkombinasikan ekstrak perikarp manggis dan kelopak bunga rosella, berdasarkan hasil penelitian tersebut ekstrak tunggal parikarp menunjukkan KHM pada konsentrasi 64 $\mu\text{g/mL}$ dan kelopak bunga rosela menunjukkan KHM pada konsentrasi 1024 $\mu\text{g/mL}$. Pada ekstrak kombinasi menunjukkan sifat sinergis karena memberikan peningkatan aktivitas antibakteri dengan konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan saat pemakaian tunggal. Masing - masing ekstrak hanya membutuhkan seperempat dari KHM- Nya untuk menghambat *P. acne* yaitu 16 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak perikarp manggis dan 256 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak kelopak bunga rosella.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode ekstraksi maserasi. Maserasi merupakan metode yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang tahan pemanasan maupun tidak tahan pemanasan. Pemilihan metode maserasi karena pada penelitian sebelumnya metode ini telah banyak digunakan untuk menarik senyawa dari daun sirih hijau dan rimpang kunyit selain itu metode ini pengerjaannya mudah dan sederhana. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol 96%, etanol 96% sangat efektif, bersifat netral dan tidak toksik.

Berdasar uraian di atas, penulis tertarik untuk melakukan uji kombinasi ekstrak daun sirih hijau dengan rimpang kunyit. Dengan mengkombinasikan dua tanaman dengan sifat antibakteri yang sama, diharapkan dapat menghasilkan efek sinergis sehingga dapat meningkatkan efektifitasnya.

1.2 Tujuan

1. Menentukan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih hijau dan rimpang kunyit terhadap *P.acnes*.
2. Menentukan konsentrasi yang efektif dari kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan rimpang kunyit dalam menghambat *P. acnes*.

1.3 Hipotesis

1. Ekstrak etanol daun sirih hijau dan rimpang kunyit dapat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes*.
2. Ekstrak etanol kombinasi daun sirih hijau dan rimpang kunyit memiliki konsentrasi yang efektif dalam menghambat *P.acnes*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Sirih Hijau

2.1.1 Morfologi Daun Sirih Hijau

Sirih merupakan tanaman merambat yang bersandar pada pohon lain. Tanaman sirih hidup di iklim tropis tingginya mencapai 15 meter. Akar sirih adalah akar tunggang. Batang sirih berwarna coklat kehijauan. Daun sirih merupakan daun tunggal dengan bentuk jantung, permukaan daun mengkilap, berujung runcing, tumbuh berselang-seling, bertangkai, dan mengeluarkan aroma yang khas bila diremas. Panjang daun 6-17,5 cm dan lebar 3,5-10 cm. Sirih memiliki bunga majemuk yang berbentuk bulir dan merunduk. (Koensomardiyah, 2010). Bentuk daun sirih hijau ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*)
(Dokumen pribadi)

2.1.2 Kandungan dan Manfaat Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri karena mengandung 4,2% minyak atsiri, sebagian besar dari minyak atsiri tersebut terdiri dari betephenol, kavikol, kavibetol, estragol dan terpen . Senyawa kavikol memiliki daya bakterisida lima kali lebih kuat dari senyawa fenol, estragol memiliki sifat

antimikroba terutama pada *Shigella sp.* Monoterpen dan sesquiterpene memiliki sifat antiseptic dan anti peradangan (Zahra & Iskandar, 2007)

2.2 Rimpang Kunyit

2.2.1 Morfologi Rimpang Kunyit

Rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) memiliki ciri ciri bercabang dan bergerombol, akar rimpang berbentuk bulat dan panjang. Rimpang terdiri dari rimpang utama dan tunas. Rimpang utama biasanya menumbuhkan tunas - tunas yang tumbuh menyamping, mendatar atau melengkung. Umumnya jumlah tunas banyak. Kulit rimpang kunyit berwarna coklat jingga atau kekuningan sampai kehitaman. Daging rimpang berwarna jingga dan memiliki aroma khas dengan sedikit pahit dan menyengat. Rimpang terus tumbuh membentuk cabang dan batang semu baru, sehingga membentuk rumpun mencapai 24,1 cm, panjang rimpang dapat mencapai 22,5 cm, tebal rimpang yang lama 4,06 cm dan rimpang baru 1,61 cm (Kristianti, 2018). Bentuk Rimpang kunyit ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.)
(Dokumen pribadi)

2.2.2 Kandungan dan Manfaat Rimpang Kunyit

Kunyit memiliki kandungan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, senyawa tersebut antaralain kurkumin, desmetoksikumin, dan bisdesmetoksikumin yang merupakan senyawa kurkuminoid . Selain itu kunyit juga mengandung senyawa minyak atsiri yang terdiri dari keton, sesquiterpene, turmeron, zingiberene,

felandren, sabinene, borneol dan sineil (Chattopadhyay *et al.*, 2015). Kandungan senyawa utama pada rimpang kunyit yang berperan sebagai antibakteri salahsatunya adalah kurkumin dan minyak atsiri (Setiyawati *et al.*, 2018).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Pengertian Ekstraksi dan Ekstrak

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu senyawa dari simplisia menggunakan pelarut yang tepat, ekstraksi bertujuan untuk menarik atau memisahkan suatu senyawa dari simplisia. Pemilihan metode ekstraksi harus memperhatikan berbagai faktor yaitu sifat senyawa yang akan diekstrak, dan pelarut yang digunakan harus sesuai dengan sifat senyawa yang akan diekstrak (Hanani, 2015). Prinsip pemisahan dan ekstraksi didasarkan pada prinsip kelarutan, seperti pelarut yang polar melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Kiswando, 2011).

Ekstrak adalah suatu sediaan dalam bentuk kental, cair atau kering yang dihasilkan dari proses ekstraksi atau penyarian suatu simplisia dengan menggunakan pelarut dan metode yang sesuai. Ekstrak cair didapatkan dari hasil penyarian (filtrat). Ekstrak kental didapatkan dari filtrat yang diuapkan dan ekstrak kering didapatkan ketika ekstrak tidak mengandung filtrat (Hanani, 2015).

2.3.2 Maserasi

Maserasi adalah ekstraksi sederhana dengan merendam ekstrak menggunakan pelarut yang memiliki kepolaran yang sama dengan senyawa aktif yang akan diambil tanpa adanya proses pemanasan (Chairunnisa *et al.*, 2019).

Kelebihan dari metode maserasi yaitu proses dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapatkan, pada saat proses ekstraksi dilakukan tanpa pemanasan sehingga senyawa yang tidak tahan panas tidak akan rusak atau terurai. kelarutan dan polaritas disesuaikan sehingga dapat memudahkan pemisahan senyawa aktif dalam sampel. Proses ekstraksi maserasi yang lama memungkinkan akan banyak senyawa yang terekstraksi (Susanty & Bachmid, 2016)

2.4 Etanol 96%

Etanol 96% merupakan etanol yang terdiri dari 96% etanol murni dan 4% air. Etanol 96% bersifat lebih non polar dari etanol 50% dan 70%. Etanol 96% memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang luas mulai dari senyawa nonpolar hingga senyawa polar (Mawarda, *et al.*, 2020). Etanol memiliki rumus kimia C₂H₅OH. Etanol bersifat mudah terbakar, tidak berwarna dan mudah menguap. Pelarut etanol dapat digunakan sebagai pengekstraksi bahan kering, daun daunan, batang dan akar (Munawaroh & Prima Astuti, 2010)

Etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut, antarlain etanol lebih selektif, dapat menghambat pertumbuhan kapang, tidak beracun (non toxic), memiliki sifat netral, memiliki daya serap yang baik, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalkan terlarutnya zat pengganggu seperti lemak (Marjoni, 2016).

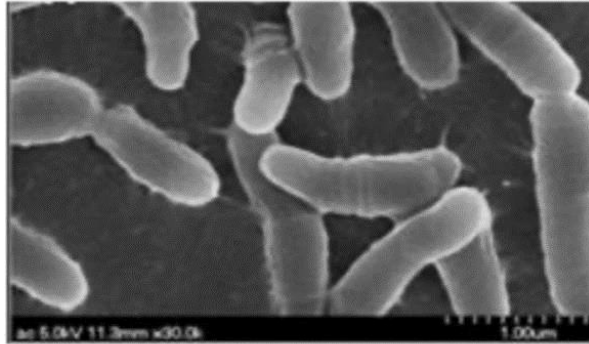
2.5 *Propionibacterium acnes*

P.acnes merupakan bakteri gram positif anaerob yang tumbuh lambat dan ditemukan pada kulit (Radhi, 2010). Bakteri ini termasuk dalam famili *Propionibacteriaceae* dari genus *propionibacterium* dan termasuk spesies *propionibacterium acne*. *P. acnes* adalah flora yang ditemukan pada kelenjar polisebasea dan saluran pernafasan. *P. acnes* merupakan basil polimorfik yang tidak dapat menghasilkan spora, tidak tahan asam, tidak dapat bergerak dan berukuran panjang 3-4 mikron dan lebar 0,5-8 mikron (Riawenni, 2017).

P. acnes membentuk koloni terutama di kelenjar minyak dan folikel rambut. Sifat pertumbuhan *P. acnes* secara anaerob. pH yang cocok untuk pertumbuhan yaitu 6,0 – 7,0. Suhu optimum untuk pertumbuhannya antara 30°C - 37°C (Mollerup *et al.*, 2016).

P. acnes berperan dalam proses pathogenesis jerawat melalui cara memecah asam lemak bebas dari lipid kulit (Khan *et al.*, 2009). *P. acnes* kemudian membentuk jaringan atau lesi non-inflamasi seperti komedo, *whiteheads* dan lesi inflamasi seperti papul, pustule, nodul dan kista. Pembentukan lesi dipengaruhi oleh

P. acnes yang telah berkembang biak dan menghasilkan peradangan pada lapisan kulit (Linuwih *et al.*, 2015).



Gambar 3. *Propionibacterium acnes*
(Sumber : Ryu *et al.*, 2015)

2.6 Antibakteri

2.6.1 Definisi Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang memiliki sifat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri, infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diatasi. Zat antibakteri dapat berupa metabolit sekunder dan mikroba, isolasi pertumbuhan atau hewan dan hasil sintesis kimia (Sulistyaningsih *et al.*, 2016).

Mekanisme kerja antibakteri dapat melalui berbagai cara, diantaranya menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel, menghambat protein dinding sel, menghambat sintesis asam nukleat, menghambat kerja enzim dan menghambat metabolisme sel mikroba (Jawetz *et al.*, 2005).

Berdasarkan sifat toksisitasnya, antibakteri dapat bersifat membunuh bakteri (bakterisidal) dan menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik). Antibakteri bakteriostatik hanya menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak mematikan, sedangkan bakterisidal dapat membunuh bakteri. Bakteriostatik dapat bersifat bakterisidal jika dalam konsentrasi yang tinggi (Purnamaningsih, 2017).

Spektrum antibakteri merupakan kisaran bakteri yang dapat dipengaruhi zat antibakteri. Berdasar spektrum kerjanya antibiotik digolongkan menjadi spektrum luas dan spektrum sempit. Antibiotik berspektrum sempit bekerja aktif terhadap

beberapa jenis mikroba saja atau bersifat spesifik. sedangkan antibiotik yang berspektrum luas bekerja aktif pada semua jenis mikroba, mikroba gram positif maupun gram negatif (Indriani & Susanti, 2017).

2.6.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian antibakteri dilakukan untuk mengetahui keefektifan suatu zat terhadap bakteri, pengujian antibakteri memanfaatkan mikroorganisme sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia, untuk mendiagnosis penyakit tertentu. Dalam pengujian ini dilakukan pengukuran pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antimikroba (Rahmadani, 2015).

Metode difusi merupakan metode untuk mengukur aktivitas antibakteri yang didasarkan pada kemampuan difusi dari antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Pengamatan akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk di sekitar zat antimikroba pada waktu tertentu selama masa inkubasi. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode cakram (*disk*), parit (*ditch*) dan sumuran (*Hole/cup*) (Maradona, 2013)

Metode dilusi merupakan metode penentuan aktivitas antibakteri dengan prinsip pengenceran antibakteri sehingga diperoleh beberapa konsentrasi obat yang ditambah suspensi bakteri dalam media. Pada metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, jika ada maka diamati tingkat kesuburan dari pertumbuhan bakteri dengan cara menghitung jumlah koloni. Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu metode dilusi cair (*Broth Dilution Test*) dan dilusi padat (*Solid Dilution Test*). Metode ini dilakukan untuk mengetahui seberapa banyak zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji (Hasibuan, 2016).

CLSI (2016) mengategorikan penghambatan antimikroba berdasarkan zona hambat sebagai berikut :

Tabel 1. Kategori Zona Hambat

Diameter Zona Hambat (mm)	Respon Hambat
≤ 14	Resistant
15 – 20	Intermediate
>21	Susceptible

2.7 Klindamisin

Klindamisin merupakan antibiotik golongan lincosamid, mekanisme kerja klindamisin adalah menghambat sintesa protein bakteri dengan mengikat subunit ribosom 50S sehingga menghambat pembentukan ikatan peptide. Klindamisin adalah antibiotik dengan efek bakteristatik, klindamisin diindikasikan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram – Positif anaerob seperti *P. acnes* (Narulita , 2017).

Rumus kimia klindamisin adalah $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S \cdot HCl$. Klindamisin HCl memiliki sifat fisik dan kimia berupa serbuk putih, mudah larut dalam air, dimetilformida, metanol, etanol dan praktis tidak larut dalam aseton (Kementrian Kesehatan RI, 2014).

BAB III

METODE KERJA

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September – Oktober 2023 di Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu alat – alat gelas (cawan petri, corong kaca, gelas ukur, gelas beker, labu ukur, tabung reaksi, dll (Pyrex[®])), aluminium foil, autoklaf, bunsen, blender (Philip[®]), batang pengaduk, cawan uap, inkubator, jangka sorong, kertas saring, kapas, kasa steril, kawat ose, kertas cakram, (Whatmann no 42), kurs silikat, *laminar air flow*, labu spirtus, mikropipet, mesh no 40, oven, pinset, spatel, tanur, timbangan analitik, *rotary evaporator*, dan alat penunjang lain yang digunakan di laboratorium.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquadest, BaCl₃, daun sirih hijau (*Piper betle* L), dimetil sufoksida (DMSO), etanol 96%, FeCl₃, H₂SO₄, HCl, isolat bakteri uji (*P. acnes*), klindamisin, larutan standar Mc Farland, magnesium, media *Brian Heart Infusion Agar* (BHIA), NaCl 0,9%, pereaksi mayer dan pereaksi dragendroff, rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) spirtus.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman

Sampel daun sirih (*Piper betle* L.) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) segar diperoleh dari Desa Selawangi Kabupaten Bogor dan di determinasi di Herbarium Depokensis Departemen Biologi Universitas Indonesia Depok.

3.3.2 Preparasi Sampel Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Daun sirih hijau dan rimpang kunyit yang digunakan adalah seluruh bagian daun dan rimpang. Daun dan rimpang kunyit segar yang digunakan merupakan daun dan rimpang yang telah disortasi basah dan dicuci masing masing sebanyak 4 Kg. rimpang kunyit dirajang tipis dengan ketebalan $\pm 0,1$ cm untuk mempermudah proses pengeringan, selanjutnya daun sirih hijau dan rimpang kunyit dikeringkan dengan penjemuran dibawah sinar matahari. Selama proses pengeringan ditutupi dengan kain hitam proses pengeringan dilakukan hingga simplisia kering. Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan pengotor yang masih ada. Setelah melalui proses pengeringan daun sirih hijau dan rimpang kunyit di grinder hingga menjadi simplisia serbuk kemudian diayak menggunakan mesh 40 untuk daun sirih dan mesh 60 untuk rimpang kunyit. Serbuk daun sirih hijau dan rimpang kunyit kemudian disimpan dalam wadah kedap udara dan dihitung rendemennya dengan rumus berikut :

$$\% \text{ rendemen simplisia} = \frac{\text{bobot akhir serbuk simplisia (gram)}}{\text{bobot awal simplisia basah (gram)}} \times 100\%$$

3.3.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Ekstrak dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% (1:10). Ditimbang dan dimasukkan serbuk simplisia masing – masing sebanyak 400 gram kedalam botol coklat, lalu ditambahkan 75% bagian pelarut etanol 96% setara dengan 3 L. Proses maserasi dilakukan selama 48 jam setiap 6 jam dilakukan pengadukan selama 5 menit, proses maserasi dilakukan pada suhu ruang 28-29°C. setelah 48 jam maserat dipisahkan dengan cara filtrasi, kemudian residu diremaserasi kembali menggunakan 25% bagian pelarut etanol 96% setara 1 L. Proses remaserasi dilakukan selama 48 jam kemudian dipisahkan kembali dengan cara filtrasi, selanjutnya filtrat yang di dapat dipekatkan menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 45° dengan kecepatan 50 rpm. Ekstrak yang di dapat kemudian dihitung % rendemennya dengan rumus berikut :

$$\% \text{ rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk simplisia}} \times 100\%$$

3.3.4 Uji Karakteristik Simplisia dan Ekstrak

3.3.4.1 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode gravimetri. Cawan uap kosong disiapkan dan ditara dengan cara di oven, lalu di dinginkan kemudian ditimbang bobot cawan kosong tersebut. Sebanyak 2 gram sampel dimasukan kedalam cawan uap yang sudah ditara. Kemudian cawan uap dan sampel dipanaskan pada suhu 105°C selama 5 jam kemudian didinginkan dan ditimbang. Selanjutnya dilakukan pengeringan dan ditimbang pada jarak 1 jam hingga perbedaan antara dua penimbangan berturut turut tidak lebih dari 0,25% (Kementrian Kesehatan RI, 2014). Pengujian dilakukan pengulangan hingga bobot konstan.

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{cawan isi sebelum di oven} - \text{cawan isi setelah di oven}}{\text{bobot simplisia (gram)}} \times 100\%$$

3.3.4.2 Penetapan Kadar Abu

Penetapan kadar abu dilakukan dengan cara ditimbang seksama 2-3 gram sampel, kemudian dimasukan kedalam kurs silikat dan dipijarkan dengan tanur dan suhu dinaikan bertahap hingga suhu 600°C hingga arang habis, kemudian ditimbang dan ditara hingga bobot konstan (Kementrian Kesehatan RI, 2017).

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{(\text{bobot krus+abu}) - \text{bobot krus kosong}}{\text{bobot simplisia (gram)}} \times 100\%$$

3.3.5 Identifikasi Senyawa Fitokimia

3.3.5.1 Uji Alkaloid

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukan kedalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 5 mL HCl 2N, lalu dipanaskan menggunakan penangas air hingga mendidih, kemudian di dinginkan dan disaring, hasil filtrat dibagi menjadi 2 dan dimasukan kedalam tabung reaksi.

a. Uji dragendroff

Filtrat pertama, dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes pereaksi dragendroff. Hasil positif ditandai terbentuknya endapan berwarna coklat.

b. Uji mayer

Filtrat kedua, dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer. Hasil positif ditandai terbentuknya endapan putih (Hanani, 2015).

3.3.5.2 Uji Flavonoid

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dilarutkan dalam 5 mL etanol 96%. Larutan sampel diambil sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat yang diteteskan dari sisi tabung kemudian dikocok perlahan. Warna merah atau jingga yang terbentuk menandakan adanya flavonoid (Hanani, 2015).

3.3.5.3 Uji Terpenoid

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H₂SO₄, jika larutan terbentuk warna merah atau ungu maka positif mengandung terpenoid (Septyaningsih, 2010).

3.3.5.4 Uji Tanin

Sampel ditimbang sebanyak 0,2 gram dan dilarutkan dalam 2 mL aquadest di dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2 atau 3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Apabila terbentuk warna biru hijau maka ekstrak positif mengandung tanin (*catechin tannin*). Sedangkan apabila terbentuk biru hitam maka ekstrak positif mengandung tanin (*Galic tannin*) (Hanani, 2015).

3.3.5.5 Uji Saponin

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian ditambahkan 10 ml air panas kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Hasil uji positif mengandung saponin jika terbentuk busa stabil dan tidak hilang dengan penambahan asam klorida (Hanani, 2015)

3.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri

3.3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat yang akan digunakan pada uji aktivitas antibakteri dicuci bersih dan dikeringkan terlebih dahulu, kemudian disterilkan dengan cara yang sesuai sebagai berikut :

1. Alat yang tahan pemanasan seperti cawan petri dan pipet ukur dibungkus dengan kertas untuk disterilkan dalam oven pada suhu 150 °C selama \pm 1-2 jam.
2. Bahan seperti media BHIA dan larutan aquadest disterilkan di dalam autoklaf dengan suhu pemanasan 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
3. Alat gelas seperti tabung reaksi, gelas kimia, erlenmeyer ditutup mulutnya dengan kapas yang dibalut dengan kasa steril, kemudian dibungkus kertas. Sterilkan dengan oven pada suhu 150°C selama 15 menit.
4. Pinset dan ose disterilkan dengan cara dipijarkan dengan api Bunsen.
5. Karet pipet, tutup vial dan alat yang terbuat dari karet disterilkan dengan direndam larutan alkohol 70% selama 5 menit.
6. *Laminar air flow (LAF)* dibersihkan dari debu dengan menyeka permukaan menggunakan lap/tisu dengan gerakan satu arah dan disemprot alkohol 70%, dibiarkan selama 15 menit dan menyalakan lampu UV selama 2 jam. (Fatimah, 2019).

3.3.6.2 Penyiapan Media Bakteri

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA). Media bakteri dibuat dengan cara menimbang BHIA sebanyak 52 gram kemudian dilarutkan dalam 500 mL aquadest sambil diaduk hingga larut, kemudian ditambahkan aquadest hingga 1000 mL. Kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas serta aluminium foil, kemudian media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit Setelah itu dituangkan kedalam cawan petri yang telah steril dan dibiarkan hingga memadat, pengujian sterilisasi dilakukan dengan media di letakan dalam inkubator dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Tandah, 2016).

3.3.6.3 Pembuatan Media Agar Miring

Media BHIA steril dimasukkan kedalam tabung reaksi steril sebanyak 7 ml secara aseptis, tabung berisi media BHIA diletakan dengan kemiringan 30 - 45°C dan dibiarkan hingga memadat dalam suhu ruang (Isnaeni *et al.*, 2021)

3.3.6.4 Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *P. acnes*. bakteri diinokulasi kedalam media agar miring menggunakan jarum ose steril, kemudian digoreskan pada permukaan medium agar miring secara zigzag selanjutnya diinkubasi secara aerob selama 48 jam pada suhu 37°C (Nurchayanti *et al.*, 2011)

3.3.6.5 Pembuatan Larutan Standar Mc Farland

Larutan standar Mc Farland dibuat dengan cara sebanyak 9,95 mL H₂SO₄ 1% dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan BaCl 1% sebanyak 0,05 mL. kedua larutan ini diaduk hingga homogen dan membentuk larutan keruh Mc Farland 0.5, kekeruhan ini digunakan sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Badan Standardisasi Nasional, 2016).

3.3.6.6 Pembuatan dan Pengenceran Suspensi Bakteri Uji

Secara aseptis bakteri *P. acnes* diambil dari agar miring hasil peremajaan menggunakan jarum ose, disuspensikan kedalam tabung reaksi yang berisi pelarut NaCl 0.9% steril sebanyak 10 ml dan kocok homogen. Kekeruhan yang terjadi pada suspensi bakteri uji, diukur dengan standar Mc Farland 0.5 dan dibandingkan secara visual. Konsentrasi yang sama dengan Mc Farland 0,5 untuk DDH dan konsentrasi 10⁶ untuk uji KHM (Kadarwenny, 2017)

Pengenceran bakteri dengan konsentrasi 10⁶ dilakukan dengan cara menyiapkan tabung reaksi sebanyak 6 buah kemudian tabung diisi larutan NaCl 0.9% sebanyak 9 ml. tabung reaksi pertama ditambahkan 1 ml suspensi bakteri uji sehingga didapat konsentrasi bakterinya menjadi 10¹. sebanyak 1 ml sampel pada tabung reaksi pertama dimasukkan kedalam tabung reaksi kedua dan didapat konsentrasi larutan bakteri 10². Kemudian diulang 10³,10⁴,10⁵ pengenceran dilakukan hingga konsentrasi larutan uji bakteri menjadi 10⁶ (Fatimah, 2019).

3.3.6.7 Pembuatan Larutan Uji KHM

Larutan uji ekstrak daun sirih hijau dibuat dengan seri konsentrasi 3, 5, 7, 9 dan 11% dengan membuat larutan stok konsentrasi 50% dalam 20 ml DMSO 10%, dengan cara menimbang 10 gram ekstrak kemudian diencerkan kedalam 20 ml DMSO 10%. Konsentrasi ekstrak 3% dibuat dari 0,6 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10%, konsentrasi ekstrak 5% dibuat dari 1 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10%, konsentrasi ekstrak 7% dibuat dari 1,4 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10% , konsentrasi ekstrak 9% dibuat dari 1,8 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10% dan konsentrasi ekstrak 11% dibuat dari 2,2 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10%.

Larutan uji ekstrak rimpang kunyit dibuat dengan seri konsentrasi 5, 10, 15 dan 20%. dengan membuat larutan stok konsentrasi 50% dalam 20 ml DMSO 10%, dengan cara menimbang 10 gram ekstrak kemudian diencerkan kedalam 20 ml DMSO 10%. Konsentrasi ekstrak 5% dibuat dari 1 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10%, konsentrasi ekstrak 10% dibuat dari 2 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10%, konsentrasi ekstrak 15% dibuat dari 3 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10% dan konsentrasi ekstrak 20% dibuat dari 4 ml larutan stok yang diencerkan dalam 10 ml DMSO 10%.

3.3.6.8 Pembuatan Larutan Pembanding

Kontrol positif yang digunakan dalam pengujian ini yaitu klindamisin dengan konsentrasi 6 ppm dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Untuk memperoleh klindamisin dengan konsentrasi 6 ppm, terlebih dahulu dibuat larutan induk 3000 ppm yang kemudian diencerkan menjadi 6 ppm. Larutan induk 3000 ppm diperoleh dengan melarutkan 300 mg serbuk klindamisin kedalam aquadest steril dalam labu ukur 100 ml. Pengenceran untuk menjadi 6 ppm dilakukan dengan memipet 0.2 ml larutan induk dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquadest steril hingga tanda batas.

3.3.6.9 Penyiapan Kertas Cakram

Kertas cakram yang digunakan yaitu kertas saring (Whattmann no 42) dengan diameter 6 mm kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C. Kertas cakram kemudian direndam pada larutan uji, kontrol positif, dan kontrol negatif secara terpisah selama 1 x 24 jam. Kemudian kertas cakram dimasukkan kedalam cawan petri dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam (hingga kerig) (Ariyani, 2018)

3.3.7 Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan dengan metode dilusi agar. Media agar cair sebanyak 20 ml dituang kedalam cawan petri steril secara aseptis. Suspense bakteri *P. acnes* konsentrasi 10^6 di teteskan sebanyak 0,2 ml kemudian diteteskan ekstrak sebanyak 1 ml kedalam cawan petri. Dihomogenkan dengan cara digerakan secara melingkar membentuk angka 8 diatas permukaan meja. Selanjutnya cawan petri dibungkus kertas dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengujian dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan. Setelah 24 jam dilihat dan diamati terjadinya pertumbuhan koloni bakteri atau tidak. Konsentrasi terkecil pada sampel uji yang terhambat pertumbuhan bakterinya merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM) (Fatimah, 2019).

3.3.8 Penetapan Diameter Daya Hambat

Pengujian diameter daya hambat (DDH) dari kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan rimpang kunyit dilakukan menggunakan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*paper disc*), perlakuan yang diuji dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Perlakuan Uji Diameter Daya Hambat

Bahan	Perlakuan						
	Ke-1 (%)	Ke-2 (%)	Ke-3 (%)	Ke-4 (%)	Ke-5 (%)	Ke-6 (%)	Ke-7 (ppm)
Ekstrak DSH	11	-	10	5	7,5	-	-
Ekstrak RK	-	15	5	10	7,5	-	-
DMSO	-	-	-	-	-	10	-
klindamisin	-	-	-	-	-	-	6

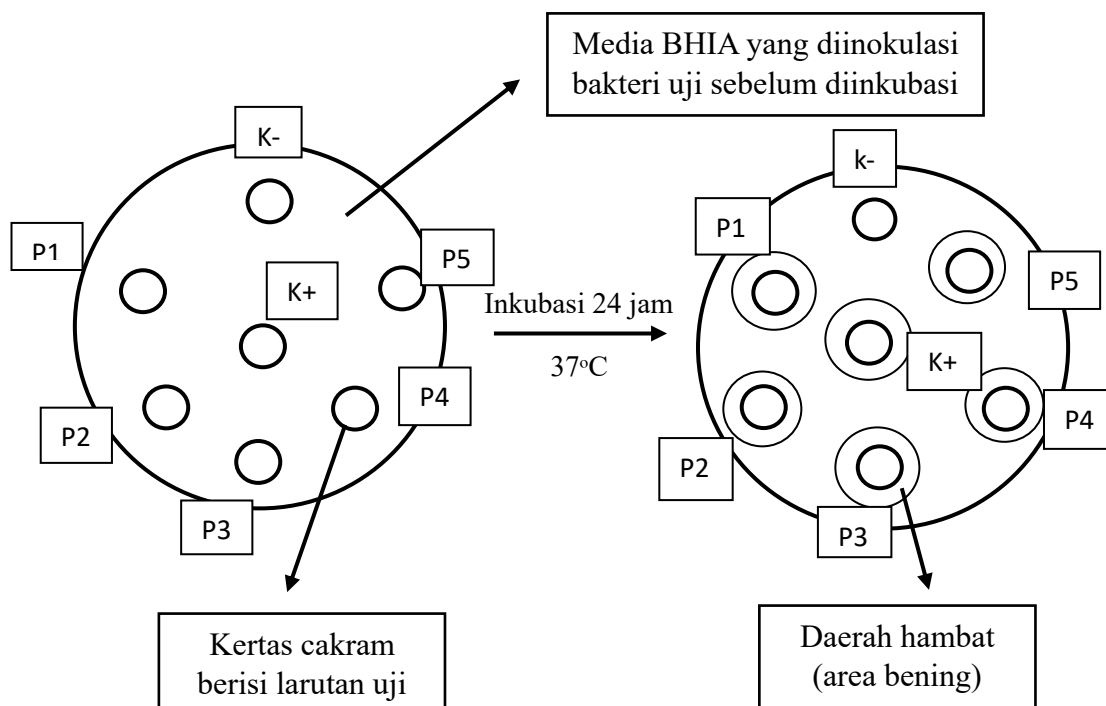
Keterangan :

DSH = Daun Sirih Hijau

RK = Rimpang Kunyit

Pada pengujian DDH terdapat 7 perlakuan yang diuji dalam penelitian diantaranya perlakuan ke-1 ekstrak tunggal daun sirih hijau dengan konsentrasi 11%, perlakuan ke-2 ekstrak Tunggal rimpang kunyit dengan konsentrasi 15%, perlakuan ke-3 kombinasi dari ekstrak daun sirih hijau 10% dan ekstrak rimpang kunyit 5%, perlakuan ke-4 kombinasi dari ekstrak daun sirih hijau 5% dan ekstrak rimpang kunyit 10%, perlakuan ke-5 kombinasi dari ekstrak daun sirih hijau 7,5% dan ekstrak rimpang kunyit 7,5%, perlakuan ke-6 merupakan kontrol negatif menggunakan DMSO 10% dan kelompok ke-7 merupakan kontrol positif menggunakan klindamisin 6 ppm.

Penetapan konsentrasi untuk uji DDH dilakukan menggunakan media BHIA sebanyak 20 mL dituang ke dalam cawan petri dan ditambahkan 0,2 mL suspensi *P. acnes* kemudian di homogenkan. Selanjutnya kertas cakram yang sudah mengandung ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif di letakan pada media agar BHIA dengan jarak kertas cakram satu dan lainnya 2-3 cm dipinggir cawan petri, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam dengan mengukur lebar daerah hambat (area bening) yang terbentuk di sekeliling kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong (Kursia *et al.*, 2016) Letak kertas cakram pada media agar dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Letak Kertas Cakram Pada Media Agar

Keterangan :

P1 : Ekstrak tunggal daun sirih hijau 11%

P2 : Ekstrak tunggal rimpang kunyit 15%

P3 : Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 10% dan rimpang kunyit 5% (2:1)

P4 : Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 5% dan rimpang kunyit 10% (1:2)

P5 : Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 7.5% dan rimpang kunyit 7,5% (1:1)

K+ : Kontrol positif (Klindamisin 6 ppm)

K- : Kontrol negatif (Larutan DMSO 10%)

3.3.9 Analisis Data

Data hasil pengamatan Diameter Daya Hambat (DDH) yang diperoleh dianalisis secara statistika menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tabel ANOVA (*Analysis of Variance*). Pada analisis ini dilakukan dengan 7 perlakuan dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha \leq 0,05$), masing masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali, apabila terdapat perbedaan pada setiap perlakuan maka dapat dilakukan uji lanjut Duncan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Tanaman Sirih dan Rimpang Kunyit diperoleh dari Perkebunan di Desa Selawangi, Kabupaten Bogor. Determinasi tanaman Sirih dan Rimpang Kunyit dilaksanakan di Herbarium Depokensis (UIDEP), Universitas Indonesia. Hasil determinasi tanaman menyatakan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini merupakan daun Sirih Hijau dengan nama latin (*Pipper betle L.*) dan suku *Piperaceae* serta Rimpang kunyit dengan nama latin (*Curcuma longa L.*) dan suku *Zingiberaceae*. Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 2.

4.2 Hasil Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Hasil simplisia serbuk daun sirih hijau didapatkan sebanyak 630 gram dengan persen rendemen sebesar 15,75%. Hasil yang didapatkan telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal II (2017) dimana syarat rendemen daun sirih hijau tidak kurang dari 5%. Hasil simplisia serbuk rimpang kunyit didapatkan sebanyak 700 gram dengan persen rendemen sebesar 17,5%. Hasil yang didapatkan telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal II (2017) dimana syarat rendemen rimpang kunyit tidak kurang dari 11%. Hasil perhitungan rendemen serbuk dapat dilihat pada lampiran 7.

Karakteristik serbuk simplisia daun sirih yang diperoleh memiliki warna hijau kecoklatan, bau khas aromatik dan rasa pedas. Hasil uji organoleptis serbuk daun sirih hijau telah sesuai dengan Farmakope Herbal II (2017) yaitu pemerian dari serbuk simplisia daun sirih memiliki warna hijau kecoklatan, bau khas dan rasa pedas. Hasil serbuk simplisia rimpang kunyit yang diperoleh memiliki warna kuning kecoklatan, bau khas aromatik dan rasa getir dan pedas. Hasil uji organoleptis serbuk rimpang kunyit telah sesuai dengan Farmakope Herbal II (2017) yaitu pemerian dari serbuk simplisia rimpang kunyit memiliki warna kuning jingga sampai coklat kemerahan, bau khas dan rasa agak pahit, agak pedas. Serbuk daun sirih hijau dan serbuk rimpang kunyit dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Serbuk Simplisia Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyitt

Keterangan :

a = Daun Sirih Hijau

b = Rimpang Kunyit

4.3 Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Hasil dari proses ekstraksi daun sirih hijau diperoleh ekstrak kental sebanyak 70,8 gram dengan hasil rendemen sebesar 17,7%. Hasil yang didapatkan telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal II (2017) dimana syarat rendemen ekstrak daun sirih hijau tidak kurang dari 5%. Hasil dari proses ekstraksi rimpang kunyit diperoleh ekstrak kental sebanyak 73,5 gram dengan hasil rendemen sebesar 18,37%. Hasil yang didapatkan telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal II (2017) dimana syarat rendemen ekstrak rimpang kunyit tidak kurang dari 11%. Hasil perhitungan rendemen serbuk dapat dilihat pada lampiran 7.

Karakteristik ekstrak daun sirih hijau yang diperoleh memiliki warna hijau pekat kehitaman, bau khas aromatik sirih, rasa pahit dan tekstur kental. Hasil uji organoleptis daun sirih hijau telah sesuai penelitian yang dilakukan oleh Manarisip *et al.*, (2020) yaitu pemerian dari ekstrak daun sirih memiliki warna hijau pekat, bau khas aromatik sirih, rasa pahit dan tekstur kental. Ekstrak rimpang kunyit yang diperoleh memiliki warna coklat pekat, bau khas aromatic, rasa pahit dan tekstur kental. Hasil uji organoleptis ekstrak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hardiyanti *et al.*, (2022) yaitu pemerian dari ekstrak rimpang kunyit memiliki warna kuning hingga coklat, bau khas, rasa pahit dan tekstur kental. Ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak rimpang kunyit dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Ekstrak Kental Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit dengan Metode Maserasi

Keterangan :

a = Daun Sirih Hijau

b = Rimpang Kunyit

4.4 Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal kadar air yang terkandung dalam simplisia serbuk dan ekstrak. Jumlah kadar air yang tinggi pada simplisia serbuk dan ekstrak dapat menjadi media pertumbuhan mikroorganisme yang dapat menyebabkan perubahan kimia pada senyawa aktif, sehingga dapat menurunkan efektivitas dari senyawa yang terkandung. Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Sampel	Syarat (Farmakope Herba, 2017) (%)	Nilai Kadar Air \pm SD (%)
Serbuk daun sirih hijau	< 10	6,03 \pm 0,4083
Ekstrak daun sirih hijau	< 10	7,14 \pm 1,2300
Serbuk rimpang kunyit	< 10	6,69 \pm 0,6361
Ekstrak rimpang kunyit	< 10	5,13 \pm 0,1829

Hasil penetapan kadar air serbuk daun sirih hijau diperoleh sebesar 6,03% dan ekstrak daun sirih hijau diperoleh sebesar 7,14%. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit diperoleh sebesar 6,69% dan ekstrak rimpang kunyit diperoleh

sebesar 5,13%. Serbuk dan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang kunyit telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia II (2017) dimana syarat kadar yakni tidak lebih dari 10%. Perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 8.

4.5 Hasil Penetapan Kadar Abu Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Penetapan kadar abu merupakan salah satu parameter untuk menentukan kualitas dari suatu simplisia serbuk dan ekstrak. Tujuan penetapan kadar abu adalah untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak. Hasil penetapan kadar abu dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Abu Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Sampel	Syarat (Farmakope Herbal, 2017) (%)	Nilai Kadar Abu \pm SD (%)
Serbuk daun sirih hijau	< 3,7	3,36 \pm 0,2013
Ekstrak daun sirih hijau	< 0,3	0,19 \pm 0,0347
Serbuk rimpang kunyit	< 8,2	4,99 \pm 0,2501
Ekstrak rimpang kunyit	< 0,4	0,38 \pm 0,0330

Hasil penetapan kadar abu serbuk daun sirih hijau diperoleh sebesar 3,36% dan ekstrak daun sirih hijau sebesar 0,19%. Hasil penetapan kadar abu serbuk rimpang kunyit diperoleh sebesar 4,99% dan ekstrak rimpang kunyit sebesar 0,38%. Serbuk dan ekstrak daun sirih hijau serta rimpang kunyit telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia II (2017) yaitu syarat kadar abu serbuk daun sirih hijau tidak lebih dari 3,7%, sedangkan ekstrak daun sirih hijau tidak lebih dari 0,3% dan syarat kadar abu serbuk rimpang kunyit tidak lebih dari 8,2% sedangkan ekstrak rimpang kunyit tidak lebih dari 0,4%. Perhitungan kadar abu dapat dilihat pada lampiran 9.

4.6 Hasil Identifikasi Senyawa fitokimia

Pengujian fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk dan ekstrak daun sirih hijau dan rimpang kunyit. Uji identifikasi

fitokimia meliputi identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin dan saponin. Identifikasi dilakukan secara kualitatif dengan mengamati warna yang terbentuk setelah pemberian beberapa reagen. Hasil uji identifikasi fitokimia dapat dilihat pada tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Hasil Uji Identifikasi Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Daun Sirih Hijau

Identifikasi senyawa	Hasil identifikasi		Keterangan
	Serbuk	Ekstrak	
Alkaloid	Dragendrof	+	Endapan coklat
	Mayer	+	Endapan putih
Flavonoid		+	Larutan kuning jingga
Terpenoid		+	Larutan ungu
Tannin		+	Larutan biru hitam
saponin		+	Busa stabil

Keterangan :

+ = Positif

- = Negatif

Tabel 6. Hasil Uji Identifikasi Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Rimpang Kunyit

Identifikasi senyawa	Hasil identifikasi		Keterangan
	Serbuk	Ekstrak	
Alkaloid	Dragendrof	+	Endapan coklat
	Mayer	+	Endapan putih
Flavonoid		+	Larutan kuning jingga
Terpenoid		+	Larutan ungu
Tannin		+	Larutan biru hitam
saponin		-	Busa stabil

Keterangan :

+ = Positif

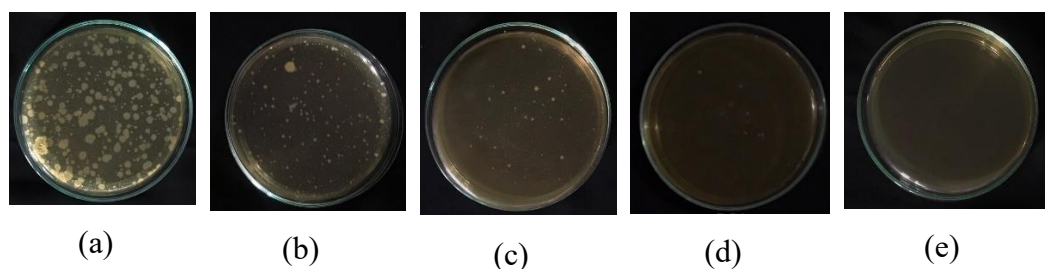
- = Negatif

Berdasarkan hasil uji identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol 96% daun sirih hijau positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin dan saponin. Hasil ini sesuai dengan penelitian Kiko *et al.*, (2023) yang menyatakan bahwa daun sirih hijau positif mengandung senyawa Alkaloid, Flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Hasil identifikasi fitokimia pada serbuk dan ekstrak etanol 96% rimpang kunyit positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, terpenoid dan tanin,

sedangkan pada uji saponin tidak menunjukkan hasil positif karena tidak terbentuk busa stabil. Hasil ini sesuai dengan penelitian Ningsih *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa rimpang kunyit mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan negatif mengandung saponin.

4.7 Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

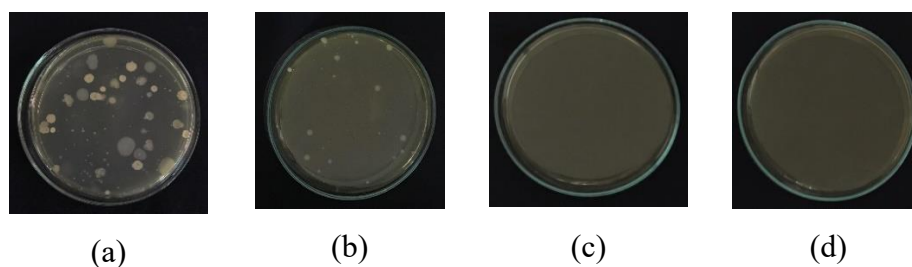
Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) merupakan uji bakteri yang bertujuan untuk menentukan konsentrasi terendah dari ekstrak daun sirih hijau dan rimpang kunyit yang dapat menghambat pertumbuhan *P. acnes*. metode yang digunakan untuk menentukan KHM yaitu menggunakan metode dilusi padat menggunakan media agar BHIA (*Brian Heart Infussion Agar*), pada metode uji ini penentuan KHM diamati secara visual dengan mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan koloni bakteri pada media agar seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Konsentrasi terkecil pada sampel uji yang terhambat pertumbuhan bakterinya merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM). Penelitian kali ini konsentrasi ekstrak daun sirih hijau yang digunakan untuk uji KHM yaitu 3, 5, 7, 9 dan 11% dan konsentrasi ekstrak rimpang kunyit yang digunakan untuk uji KHM yaitu 5, 10, 15 dan 20% konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi yang digunakan dalam 20 ml media agar dan masing masing pengujian dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan.



Gambar 7. Hasil Uji KHM Ekstrak Daun Sirih Hijau Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne*

Keterangan : a = konsentrasi 3%
b = konsentrasi 5%
c = konsentrasi 7%
d = konsentrasi 9%
e = konsentrasi 11%

Hasil pengamatan uji KHM ekstrak daun sirih hijau pada konsentrasi 3,5,7 dan 9% pada ulangan ke 1 dan ke 2 masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri *P.acnes* di tandai dengan adanya bercak putih pada media sedangkan pada konsentrasi 11% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *P.acnes* pada ulangan ke 1 maupun ke 2. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 11% merupakan nilai KHM di tandai dengan media yang bening yang menandakan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *P.acnes*. Hasil yang di dapat dari ekstrak daun sirih hijau berbeda dengan penelitian sebelumnya, dimana pada penelitian yang dilakukan Amanda (2022) ekstrak daun sirih hijau yang diekstraksi dengan etanol 96% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes* pada konsentrasi 9%. Perbedaan nilai KHM ini dapat dipengaruhi oleh tingginya kadar air pada ekstrak dan perbedaan tempat Ketika dilakukan proses pengumpulan tanaman. Tanaman yang sama tetapi berasal dari daerah berbeda dapat memberikan aktifitas yang berbeda karena jumlah senyawa aktif pada tanaman dipengaruhi lingkungan geografis, iklim dan tanah (Hidayat dan Napitupulu, 2015). Hasil KHM daun sirih Hijau dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 8. Hasil Uji KHM Ekstrak Rimpang Kunyit Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne*

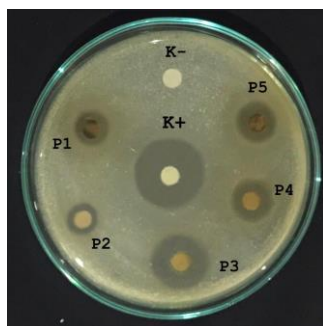
Keterangan : a = konsentrasi 5%
 b = konsentrasi 10%
 c = konsentrasi 15%
 d = konsentrasi 20%

Hasil pengamatan pada ekstrak rimpang kunyit konsentrasi 5% dan 10% pada ulangan ke 1 dan ke 2 masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri *P.acnes* di tandai dengan adanya bercak putih pada media sedangkan pada konsentrasi 15% dan 20% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *P.acnes* pada ulangan ke 1 maupun ke 2.

Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kunyit dengan konsentrasi 15% merupakan nilai KHM karena konsentrasi 15% merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *P.acnes*. Hasil yang di dapat dari ekstrak rimpang kunyit sesuai dengan penelitian sebelumnya, dimana pada penelitian yang dilakukan Cahyani *et al.*, (2020) rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) yang diekstraksi dengan etanol 96% dengan metode maserasi menunjukkan KHM terhadap *P. acnes* pada konsentrasi 15%. Nilai KHM yang didapat dapat dijadikan sebagai acuan untuk konsentrasi uji Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi. Hasil KHM Rimpang kunyit dapat dilihat pada gambar 8.

4.8 Hasil Uji Diameter Daya Hambat (DDH)

Uji Diameter Daya Hambat (DDH) merupakan uji bakteri yang bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak dalam menghambat bakteri *P.acnes*. Metode yang digunakan untuk menentukan DDH yaitu metode difusi cakram. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Balouiri *et al.*, 2016). Besarnya DDH menunjukkan kemampuan aktivitas antibakteri, semakin besar nilai DDH maka kemampuan sebagai antibakteri semakin baik. Hasil DDH dapat dilihat pada gambar 9 dan tabel 7.



Gambar 9. Hasil Uji Diameter Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Rimpang Kunyit

Keterangan :

P1 = Ekstrak tunggal daun sirih hijau 11%

P2 = Ekstrak tunggal rimpang kunyit 15%

P3 = Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 10% dan rimpang kunyit 5%

P4 = Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 5% dan rimpang kunyit 10%

P5 = Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 7.5% dan rimpang kunyit 7,5%

K+ = Kontrol positif (Klindamisin 6 ppm)

K- = Kontrol negatif (Larutan DMSO 10%)

Tabel 7. Hasil Rata – Rata Diameter Daya Hambat

Perlakuan	Rata rata DDH (mm) ± SD	Kategori
P1	9,7 ± 1,3114 ^{bc}	Resistant
P2	7,96 ± 0,2516 ^b	Resistant
P3	16,76 ± 2,1385 ^d	Intermediate
P4	10,8 ± 1,1135 ^{bc}	Intermediate
P5	11,56 ± 2,4027 ^c	Intermediate
K+	24,4 ± 2,5865 ^e	Suceptible
K-	0 ± 0 ^a	Tidak ada hambatan

Berdasarkan data pada tabel 7, nilai DDH terbaik ditunjukkan oleh K+ yaitu kontrol positif klindamisin 6 ppm dengan rata-rata DDH sebesar 24,4 mm yang termasuk dalam kategori suceptible dan nilai DDH terendah ditunjukkan oleh P2 yaitu ekstrak tunggal rimpang kunyit 15% dengan rata - rata DDH sebesar 7.6 mm dan P1 yaitu ekstrak tunggal daun sirih hijau 11% menunjukkan nilai rata rata DDH sebesar 9.7 mm keduanya termasuk kedalam kategori resistant. Pada uji kombinasi ketiga perlakuan yaitu P3 (kombinasi ekstrak daun sirih hijau 10% dan rimpang kunyit 5%) menunjukkan rata - rata DDH sebesar 16,76 mm, P4 (kombinasi ekstrak daun sirih hijau 5% dan rimpang kunyit 10%) menunjukkan rata rata DDH sebesar 10,8 mm dan P5 (kombinasi ekstrak daun sirih hijau 7,5% dan rimpang kunyit 7,5%) menunjukkan rata rata DDH sebesar 11,56 mm, ketiga perlakuan tersebut termasuk dalam kategori intermediate. Diantara ketiga perlakuan tersebut, kombinasi dengan nilai DDH terbaik adalah P3 yaitu kombinasi daun sirih hijau 10% dan rimpang kunyit 5% dengan rata-rata DDH sebesar 16,76 mm. Kontrol negatif K- DMSO 10% tidak menunjukkan efek hambatan, sehingga dapat

ditentukan zona hambat yang terbentuk murni berasal dari ekstrak daun sirih hijau dan rimpang kunyit.

Hasil uji DDH berdasar ekstrak tunggal dan kombinasi yang dihasilkan menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi memberikan nilai zona hambat yang lebih besar dari ekstrak tunggal, hal ini mungkin disebabkan oleh interaksi sinergis antara senyawa aktif yang terkandung dalam masing masing ekstrak. Menurut Sukandar *et al.*, (2014) kombinasi ekstrak terbaik adalah kombinasi yang menunjukkan sifat sinergis karena memberikan peningkatan aktivitas antibakteri dengan konsentrasi ekstrak yang lebih kecil dibanding saat pemakaian tunggal.

Berdasarkan hasil pengujian, kandungan metabolit skunder pada ekstrak daun sirih hijau meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, minyak atsiri betephenol dan kavikol mengakibatkan adanya kemampuan dalam menghambat bakteri *P.acnes* masing masing senyawa dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme yang berbeda- beda.

Flavonoid dan tanin merupakan golongan senyawa fenolik dengan gugus fenol sebagai struktur dasar. Senyawa fenol dapat berperan sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya adalah dengan mendenaturasi protein dinding sel bakteri. selain itu, polaritas gugus hidroksi juga dapat menghambat pembentukan asam amino sehingga dapat merusak membran sel, yang menyebabkan kerusakan membrane sel sehingga bakteri mengalami lisis (Fatriadi *et al.*, 2018). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan menghambat komponen peptidoglikan pada sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel tidak sempurna (Riyanto & Suhartati, 2019). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sel dan mengganggu permeabilitas membrane sel. Gangguan permeabilitas pada sel akan mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Sari *et al.*, 2017). Mekanisme antibakteri minyak atsiri adalah dengan mengganggu proses pembentukan dinding sel sehingga menyebabkan membrane dinding sel tidak terbentuk sempurna atau bahkan tidak terbentuk (Pujiastuti *et al.*, 2013). Selain itu, minyak atsiri juga dapat menghambat biosintesis bakteri dan pembentukan asam nukleat sehingga menyebabkan kerusakan sel pada keseluruhan (Novita, 2016). Kavikol yang merupakan senyawa utama pada daun sirih hijau

memiliki aktivitas antibakteri lima kali lebih banyak dibandingkan fenol, yaitu membunuh mikroorganisme dengan cara mendenaturasi protein seluler (Pujiastuti *et al.*, 2013). Pada rimpang kunyit komponen senyawa utama yang berperan sebagai antibakteri yaitu senyawa fenolik alami diantaranya kurkumin dan sesquiterpenoid yang terkandung dalam minyak atsiri, mekanisme kerja dari kurkumin adalah menghambat metabolisme bakteri dengan merusak membrane sitoplasma dan mendenaturasi protein sel yang menyebabkan kebocoran nutrient sehingga sel bakteri mati dan terhambat pertumbuhannya (Ramadhani, 2017)

4.9 Hasil Analisis Data

Berdasarkan hasil uji ANOVA menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) Nilai diameter daya hambat (DDH) yang diperoleh berasal dari populasi yang homogen. Hasil pada uji perbedaan menunjukkan bahwa adanya perbedaan diameter daya hambat yang dihasilkan dari berbagai perlakuan. Berdasarkan Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa Perlakuan K- memberikan pengaruh berbeda nyata dengan Perlakuan P1, P2, P3 dan P4. Perlakuan P2, P1 dan P4 memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata dan perlakuan P1, P4 dan P5 memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata, sedangkan pada perlakuan P3 dan K+ memberikan pengaruh yang berbeda nyata. perlakuan yang memberikan pengaruh yang paling besar yaitu K+ yang merupakan kontrol positif dan P3 yang merupakan kombinasi ekstrak daun sirih hijau 10% dan rimpang kunyit 5%. selain itu perlakuan yang memberikan pengaruh kecil terhadap diameter daya hambat yaitu K- yang merupakan kontrol negatif dan P2 yang merupakan ekstrak tunggal rimpang kunyit 15%.

BAB IV

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasar hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol 96% daun sirih hijau menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dengan KHM pada konsentrasi 11% dan ekstrak etanol 96% rimpang kunyit. menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dengan KHM pada konsentrasi 15%
2. Kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan rimpang kunyit yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *P. acnes* yaitu pada konsentrasi kombinasi P3 yang merupakan kombinasi daun sirih hijau 10% dan rimpang kunyit 5%.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pertumbuhan bakteri penyebab jerawat lainnya dan dikembangkan menjadi sediaan topikal.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanda (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Beluntas dan Daun Sirih Hijau Terhadap *Propionibacterium acne* Penyebab Jerawat. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
- Ariyani, H. (2018). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Cytrushystrix DC*) Terhadap Beberapa Bakteri. *Current Pharmaceutical Science*. 2(1): 136–141.
- Badan Standardisasi Nasional (2016) Uji Sensitivitas Bakteri yang Diisolasi Dari Ikan dan Lingkungan Terhadap Antimikroba Dengan Menggunakan Metode Difusi Cakram. Jakarta : SNI.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2): 71–79.
- Cahyani, A., Anggraini, D. I., Soleha, T. U., & Tjiptaningrum, A. (2020). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica Val .*) terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kesehatan*. 3(11): 414–421.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., Suhendra, L., (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7(4): 551–560.
- Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., & Banerjee, R. K. (2015). Turmeric and curcumin : Biological actions and medicinal applications. *Current Science*. 87 : 22-50.
- CLSI (2016). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. (26th ed. C). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Desbois, A. P., & Lawlor, K. C. (2013). Antibacterial activity of long- chain polyunsaturated fatty acids against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus*. *Marine Drugs*. 11(11): 4544-4557.
- Fatimah, K. D. (2019). Uji Stabilitas Fisik Dan Aktivitas Antibakteri Formula Gel , Krim Dan Lotion Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L .*). Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Fatriadi, F., Kurnia, D., & Satari, M. H. (2018). Antibacterial activity of ethyl acetate fraction from methanolic extracts of ant-plant tubers towards *Streptococcus sanguis ATCC 10566*. *Padjadjaran Journal of Dentistry*. 30(3): 189–192.
- Hanani, E. (2015). Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta.

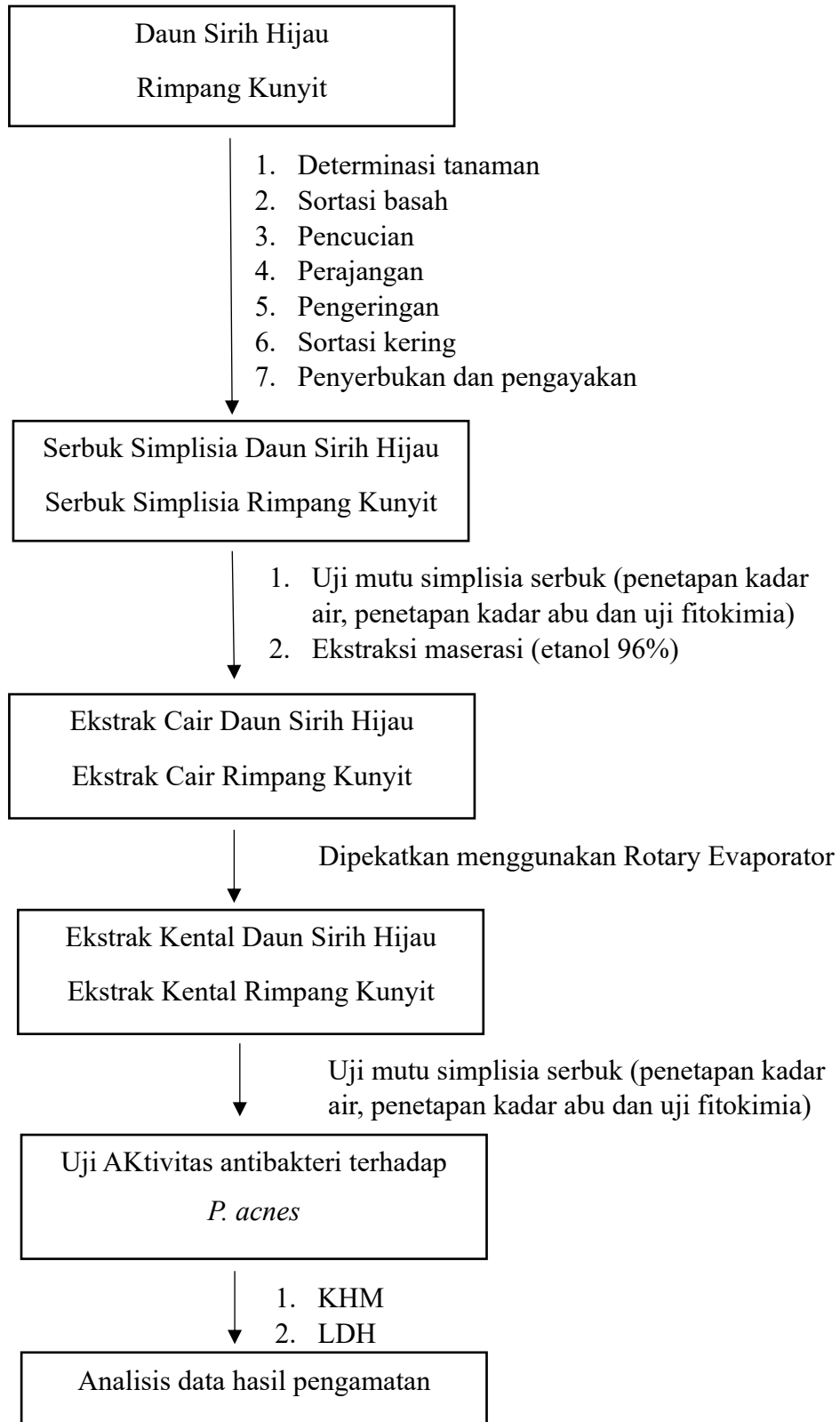
- Hardiyanti, T., Agustin, E., Azzahra, N., & Arrajib, R. (2022). Standarisasi Ekstrak Kunyit Kuning (*Curcuma domestica Val.*) Di Desa Tanjung Batu Ogan Ilir Sumatera Selatan. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Kader Bangsa Palembang.
- Hasibuan A, S., (2016). Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas Linn*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Eschericia coli* Secara In Vitro. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Hidayat, S., dan Napitupulu, R. (2015). Kitab Tumbuhan Obat. Jakarta: Agriflo
- Indriani, E., & Susanti, N. S. (2017). Flu dan Batuk, Perlukah Antibiotik? *Farmasetika.Com (Online)*. 2(5): 5.
- Isnaeni, D., Rasyid, A. U. M., & Rahmawati, R. (2021). Uji Aktivitas Ekstrak Daun Opo-Opo (*Desmodium pulchellum Linn Benth*) sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan *Streptococcus viridans* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. 3(2): 278–289.
- Jawetz, Melnick, & Adelberg. (2008). Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- Kadarwenny, C. P. (2017). Penetapan Kadar Alkaloid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Bacillus cereus* dari Ekstrak Etanol Daun *Kemaitan (Lunasia amara blanco)*. Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Kementrian Kesehatan RI. (2014). Farmakope Indonesia Edisi V. Jakarta, Indonesia
- Kementrian Kesehatan RI. (2017) Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua. Jakarta, Indonesia.
- Khan, Z., Assi, M., & Moore, T., (2009). Recurrent Epidural Abscess Caused by *Propionibacterium acnes*. *Kansas Journal of Medicine*. 92-95
- Kiko, P. T., Taurina, W., & Andrie, M. (2023). Karakterisasi Proses Pembuatan Simplisia Daun Sirih Hijau (*Piper Betle*) Sebagai Sediaan Obat Penyembuhan Luka. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*. 3(1): 16–25.
- Kiswandono, A. (2011). Skrining Senyawa Kimia dan Pengaruh Metode Maserasi dan Refluks Pada Biji Kelor (*Moringa oleifera Lamk*) Terhadap Rendemen Ekstrak yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. 1(2) :126-134.
- Kristianti W (2018). Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Ekstrak *Curcuma domestica val*, dalam etanol 70%. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.
- Kursia, S., Lebang, J., & Taebe, B. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Paper betle L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermis*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 3(2): 72-77.

- Linuwih, S. W. Menaldi., Bramono, K., & Indriatami, W., (2015). Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Madelina, W., & Sulistyaningsih. (2018). RIVIEW : Resistensi Antibiotik Pada Terapi Pengobatan Jerawat. *Fitofarmaka*. 16(2) : 105-117.
- Manarisip, G., Fatimawali, & Rotinsulu, H. (2020). Standarisiasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dan Uji Bakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. 9 (4) : 533-541
- Maradona, D., (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian, Daun Lengking dan Daun Rambutan Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus ATCC 25925* dan *Eschericia Coli ATCC 25922*. Fakultas Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah.
- Marjoni, M. R., (2016). Dasar – Dasar Fitokimia Dasar-Dasar untuk Diploma III Farmasi Jakarta : Trans Info Media.
- Mawarda, A., Samsul, E., & Sastrayina, Y., (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 11 : 1-4.
- Mollerup, S., Nielsen & Vinner, L., (2016). *Propionibacterium acnes* : Disease Causing Agent or Common Contaminant? Detection in Diverse Patients Samples by Next Generation Squencing. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(4) : 980
- Movita, T. (2013). Acne Vulgaris. *Continuing Medical Education*. 40(3): 269-272
- Munawaroh, S., & Prima Astuti, H. (2010). Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut dengan Pelarut Etanol dan n-Heksan. *Jurnal Kompetensi Teknik*. 1(2): 1–23.
- Narulita, W. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung
- Ningsih, A. W., Hanifa, I., & Hisbiyah, A. (2020). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*.. 2(2): 96–104.
- Novita, W. (2016). Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih (*Piper Betle L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans* secara in vitro. *Jambi Medical Journal*. 4(2): 141-155.
- Nurchayanti, A. D. R., Dewi, L., & Timotius, K. H. (2011). Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Polar Dan Non Polar Biji Selasih (*Ocimum sanctum Linn*). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. 22(1): 1–6.
- Partomuan, S. (2012). Review Studi Kimia dan Farmakologi Tanaman Kunyit (*Curcuma longa L*) Sebagai Tumbuhan Obat Serbaguna. *Agrium*. 17(2): 103–

- Patil, R. S., Harale, P. M., Shivangekar, K. V., Kumbhar, P. P., & Desai, R. R. (2015). Phytochemical potential and in vitro antimicrobial activity of Piper betle Linn. leaf extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(5): 1095–1101.
- Pujiastuti, P., & Lestari, S., (2013). Perbedaan efektifitas antibakteri antara ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*. *Stomatognatic-Jurnal Kedokteran Gigi*. 10(1): 1-5
- Purmaningsih, N., (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli ATCC* dan *Staphylococcus aureus ATCC 25293*. *Jurnal Penelitian Saintek*. 22(2) : 140-146.
- Radhi, M. (2010). Buku Ajaran Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahmadani, F. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Ramadhani, P. (2017). Hambat ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica V.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 6(3):590-595
- Riawenni, S., (2017). Aktivitas Antibakteri Krim Antijerawat yang Mengandung Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Terhadap *Propionibacterium acnes*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Riyanto, E. F., & Suhartati, R. (2019). Daya Hambat Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea L*) Terhadap Bakteri Perusak Pangan. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*. 19(2): 218.
- Ryu, S., Han, H. M., Song, P. I., Armstrong, C. A., & Park, Y. (2015). Suppression of propionibacterium acnes infection and the associated inflammatory response by the antimicrobial peptide P5 in Mice. *PLoS ONE*, 10(7): 1–18.
- Sari, R., Muhani, M., & Fajriaty, I. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa Baill.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. *Pharm Sci Res*. 4(3): 143–154.
- Septyaningsih, D. (2010). Isolasi dan identifikasi komponen utama ekstrak biji buah merah (*Pandanus conoideus lamk*). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Setiyawati, D., Situmeang, S. M. F., Rahmah, L., & Ningsih, S. W. (2020). Daya hambat ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val.*) terhadap

pertumbuhan *Salmonella typhi*. 4(2): 57–60.

- Sukandar, E. Y., Garmana, A. N., & Khairina, C., (2014). Uji Aktivitas Antimikroba Kombinasi Ekstrak Perikarp Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) terhadap Bakteri Penginfeksi Kulit. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 3(4): 57–62.
- Sulistyaningsih, R., Firmansyah, & Tjitraresmi, A. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Bayam Duri (*Amaranthus spinosus L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Farmaka*. 14(1). 93–103.
- Susanty & Bachdim, F. (2019). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *KONVERSI*. 5(2) : 87-92.
- Tandah (2016), Daya Hambat Dekokta Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Kesehatan Tadulako*. 2(1) : 1-75
- Zahra, S., dan Iskandar, Y. (2007). Kandungan senyawa kimia dan bioaktivitas *Ocimum Basilicum L.* *Jurnal Farmaka*, 15 (3), 143-152

Lampiran 1. Alur Kerja Penelitian

Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN
ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN BIOLOGI
Gedung E Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus UI Depok 16424
Telp. +62-21 727 0163, +62-21 7884 9006, Fax. +62-21 7884 9010
www.biologi.ui.ac.id

Depok, 16 Agustus 2023

Nomor : 1021/UN2.F3.11/PDP.02.00/2023
Lampiran : 1 halaman (Daftar Referensi dan Catatan Identifikator)
Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada
Vina Dwi Ananda
Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan
Tegallega, Bogor
Jawa Barat 16129

Dengan hormat,
bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Herbarium Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota Universitas Indonesia, pada tanggal 10 Agustus 2023, adalah sebagai berikut dengan acuan yang tertera pada lampiran.

No.	Dugaan dan Kode Spesimen	Hasil Identifikasi	
		Spesies	Famili
1.	Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L.) [JI23-P-119]	<i>Curcuma longa</i> L. *	Zingiberaceae
2.	Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) [JI23-P-118]	<i>Piper betle</i> L. *	Piperaceae

* lihat catatan identifikator

Departemen Biologi FMIPA UI dan Herbarium Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota Universitas Indonesia tidak bertanggung jawab terhadap tindakan penyalahgunaan hasil identifikasi. Demikian surat ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya oleh pihak yang bersangkutan.

Ketua Departemen Biologi FMIPA UI

 Anam Bowolaksono, Ph.D
 NIP.197406011998021001

Lampiran 3. Certificate of Analysis *Propionibacterium acnes*

thermoscientific

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
12230 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6730
800.447.5761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis

Product Name: *P. acnes* ATCC 6919 PK/5 (F2)
Lot Number: 284254
Product Number: R4607101
Expiration Date: 2022-10-20
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Inc., a part of Thermo Fisher Scientific Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:
Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:
Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:
Colony morphology is consistent with documented referenced description.
Traditional staining is performed.

Characterization:
Organism exhibits characteristic biochemical, enzymatic, genotypical and/or biochemical reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4) Passage: 3
Gram Reaction: Gram Positive Rod Identification Profile: MicroSEQ® or Vitek® 2

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop
pH: N/A

Page 1 of 2

Lampiran 4. Certificate of Analys Media BHIA



Certified : ISO 9001:2015, ISO 13485:2016 , WHO GMP

HiMedia Laboratories Private Limited
23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,
Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,
Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M211	Material Name : BHI Agar (Special Infusion Agar)	Lot No : 0000460303
Report No.: 40001076834	Date of Release & Report : 2020-12-11	Expiry Date : 2025-11

. Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH \leq 7.0 and/or a temperature in excess of 75°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy)/ TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) and dioxine are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific risks material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED

This is to certify that this lot passes and it confirms to the above mentioned tests and specifications . The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current HiMedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

This document has been produced electronically and is valid







Mayra Sonavane
Microbiologist/Sr.Executive
Microbiologist


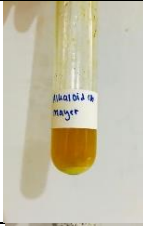




Ujjwala M. Kokate
Asst./Dy/QC Manager

Dr. Santosh Kaul
Dy/QA Manager

2020-12-11

Lampiran 5. Hasil Identifikasi Fitokimia

Daun Sirih Hijau				
Identifikasi senyawa	pereaksi	ekstrak	serbuk	Foto hasil identifikasi
Alkaloid	dragendrof	+	+	
	mayer	+	+	
Flavonoid		+	+	
Terpenoid		+	+	
Tanin		+	+	
Saponin		+	+	

Rimpang Kunyit				
Identifikasi senyawa	pereaksi	ekstrak	serbuk	Foto hasil identifikasi
Alkaloid	dragendrof	+	+	
	mayer	+	+	
Flavonoid		+	+	
Terpenoid		+	+	
Tanin		+	+	
Saponin		-	-	

Lampiran 6. Alat yang digunakan dalam penelitian

 <p>Alat gelas</p>	 <p>Tabung reaksi</p>
 <p>Desikator</p>	 <p>Tanur</p>
 <p>Oven</p>	 <p>Oven inkubator</p>
 <p>Autoklaf</p>	

Lampiran 7. Perhitungan Rendemen Simplisia Serbuk dan Ekstrak

1. Perhitungan Rendemen Simplisia Serbuk

Jenis	Bobot Awal (g)	Bobot Serbuk Simplisia (g)	% Rendemen (%)
Daun Sirih Hijau	4000	630	15,75
Rimpang Kunyit	4000	700	17,5

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen daun sirih hijau} &= \frac{\text{bobot serbuk simplisia}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \\ &= \frac{630 \text{ gram}}{4000 \text{ gram}} \times 100\% = 15,75\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen rimpang kunyit} &= \frac{\text{bobot serbuk simplisia}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \\ &= \frac{700 \text{ gram}}{4000 \text{ gram}} \times 100\% = 17,5\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Jenis	Bobot Awal (g)	Bobot Ekstrak (g)	% Rendemen (%)
Daun Sirih Hijau	400	70,8	17,7
Rimpang Kunyit	400	73,5	18,37

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen daun sirih hijau} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \\ &= \frac{70,8 \text{ gram}}{400 \text{ gram}} \times 100\% = 17,7\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen rimpang kunyit} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \\ &= \frac{73,5 \text{ gram}}{400 \text{ gram}} \times 100\% = 18,37\% \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan Kadar Air Simplisia Serbuk dan Ekstrak

1. Kadar Air Simplisia Serbuk Daun Sirih Hijau

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)	Berat Simplisia (g)	Berat Cawan + Simplisia (g)	Penimbangan jam Ke-	Berat Cawan + Simplisia Setelah di Oven (g)
1	35,1466			1	37,1127
	35,1361			2	37,1063
	35,1342	2,0823	37,2165	3	37,1018
				4	37,0987
				5	37,0968
2	36,2223			1	38,1272
	36,2156			2	38,1193
	36,2134	2,0250	38,2384	3	38,1142
				4	38,1114
				5	38,1103

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{\text{cawan isi sebelum di oven} - \text{cawan isi setelah di oven}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Air Ulangan Ke- 1} = \frac{37,2165 - 37,0968}{2,0823} \times 100\% = 5,74\%$$

$$\% \text{ Kadar Air Ulangan Ke- 2} = \frac{38,2384 - 38,1103}{2,0250} \times 100\% = 6,32\%$$

$$\% \text{ Rata-Rata Kadar Air} = \frac{5,74 + 6,32}{2} = 6,03\%$$

2. Kadar Air Ekstrak Daun Sirih Hijau

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)	Berat Ekstrak (g)	Berat Cawan + Ekstrak (g)	Penimbangan jam Ke-	Berat Cawan + Ekstrak Setelah di Oven (g)
1	39,2531			1	41,1385
	39,2433			2	41,1344
	39,2419	2,0114	41,2533	3	41,1313
				4	41,1286
				5	41,1271
2	40,8377			1	42,8861
	40,8240			2	42,8728
	40,8219	2,2062	43,0281	3	42,8595
				4	42,8557
				5	42,8531
				6	42,8513

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{\text{cawan isi sebelum di oven} - \text{cawan isi setelah di oven}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Air Ulangan Ke- 1} = \frac{41,2533 - 41,1271}{2,0114} \times 100\% = 6,27\%$$

$$\% \text{ Kadar Air Ulangan Ke- 2} = \frac{38,2384 - 38,1103}{2,2062} \times 100\% = 8,01\%$$

$$\% \text{ Rata-Rata Kadar Air} = \frac{6,27 + 8,01}{2} = 7,14\%$$

3. Kadar Air Simplisia Serbuk Rimpang Kunyit

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)	Berat Simplisia (g)	Berat Cawan + Simplisia (g)	Penimbangan jam Ke-	Berat Cawan + Simplisia Setelah di Oven (g)
1	40,7981			1	42,7573
	40,7911			2	42,7498
	40,7893	2,0818	42,8711	3	42,7452
				4	42,7428
				5	42,7411
2	42,9443			1	44,9148
	42,9422	2,0940	45,0362	2	44,9026
				3	44,8943
				4	44,8889
				5	44,8866

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{\text{cawan isi sebelum di oven} - \text{cawan isi setelah di oven}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Air Ulangan Ke- 1} = \frac{42,8711 - 42,7411}{2,0818} \times 100\% = 6,24 \%$$

$$\% \text{ Kadar Air Ulangan Ke- 2} = \frac{45,0362 - 44,8866}{2,0940} \times 100\% = 7,14\%$$

$$\% \text{ Rata-Rata Kadar Air} = \frac{6,24 + 7,14}{2} = 6,69\%$$

4. Kadar Air Ekstrak Rimpang Kunyit

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)	Berat Ekstrak (g)	Berat Cawan + Ekstrak (g)	Penimbangan jam Ke-	Berat Cawan + Ekstrak Setelah di Oven (g)
1	35,2405			1	37,2994
	35,2265			2	37,2925
	35,2241	2,1755	37,3996	3	37,2892
				4	37,2863
				5	37,2851
2	37,1993			1	39,2114
	37,1786			2	39,2061
	37,1772	2,1301	39,3073	3	39,2030
				4	39,2007

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{\text{cawan isi sebelum di oven} - \text{cawan isi setelah di oven}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Air Ulangan Ke- 1} = \frac{37,3996 - 37,2851}{2,1755} \times 100\% = 5,26\%$$

$$\% \text{ Kadar Air Ulangan Ke- 2} = \frac{39,3073 - 39,2007}{2,1301} \times 100\% = 5,00\%$$

$$\% \text{ Rata-Rata Kadar Air} = \frac{5,26 + 5,00}{2} = 5,13\%$$

Lampiran 9. Perhitungan Kadar Abu Simplisia Serbuk dan Ekstrak

1. Kadar Abu Simplisia Serbuk Daun Sirih Hijau

Ulangan Ke-	Bobot Kurs Kosong (g)	Bobot Simplisia (g)	Bobot Kurs + Abu (g)	Kadar Abu (%)
1	58,6463		58,7298	
	58,6429		58,7167	
	58,6418	2,0062	58,7133	3,5
			58,7122	
2	61,4659		61,5925	
	61,4556		61,5237	3,22
	61,4536	2,1213	61,5220	

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(\text{Bobot kurs+abu}) - \text{bobot kurs kosong}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ulangan Ke- 1} = \frac{58,7122 - 58,6418}{2,0062} \times 100\% = 3,5\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ulangan Ke- 2} = \frac{61,5220 - 61,4536}{2,1213} \times 100\% = 3,22\%$$

$$\text{Rata-rata Kadar Abu} = \frac{3,5 + 3,22}{2} = 3,36\%$$

2. Kadar Abu Ekstrak Daun Sirih Hijau

Ulangan Ke-	Bobot Kurs Kosong (g)	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Kurs + Abu (g)	Kadar Abu (%)
1	69,0291		69,0368	
	69,0243		69,0282	0,22
	69,0221	2,0009	69,0266	
2	57,0981		57,0976	
	57,0828		57,0851	0,17
	57,0811	2,0032	57,0846	

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(\text{Bobot kurs+abu}) - \text{bobot kurs kosong}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ulangan Ke- 1} = \frac{69,0266 - 69,0221}{2,0009} \times 100\% = 0,22\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ulangan Ke- 2} = \frac{57,0846 - 57,0811}{2,0032} \times 100\% = 0,17\%$$

$$\text{Rata-rata Kadar Abu} = \frac{0,22 + 0,17}{2} = 0,19\%$$

3. Kadar Abu Simplisia Rimpang Kunyit

Ulangan Ke-	Bobot Kurs Kosong (g)	Bobot Simplisia (g)	Bobot Kurs + Abu (g)	Kadar Abu (%)
	54,679		54,8254	
1	54,6712	2,0976	54,7732	4,81
	54,6699		54,771	
	55,8041		55,9706	
2	55,798	2,0064	55,9013	5,17
	55,7964		55,9002	

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(\text{Bobot kurs+abu}) - \text{bobot kurs kosong}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ulangan Ke- 1} = \frac{54,771 - 54,6699}{2,0976} \times 100\% = 4,81\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ulangan Ke- 2} = \frac{55,9002 - 55,7964}{2,0064} \times 100\% = 5,17\%$$

$$\text{Rata-rata Kadar Abu} = \frac{4,81 + 5,17}{2} = 4,99\%$$

4. Kadar Abu Ekstrak Rimpang Kunyit

Ulangan Ke-	Bobot Kurs Kosong (g)	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Kurs + Abu (g)	Kadar Abu (%)
1	44,1739		44,2663	
	44,1699		44,1778	0,36
	44,1687	2,0228	44,1761	
2	57,6947		57,7529	
	57,6845		57,6929	0,41
	57,6822	2,1332	57,6910	

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(\text{Bobot kurs+abu}) - \text{bobot kurs kosong}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ulangan Ke- 1} = \frac{44,1761 - 44,1687}{2,0228} \times 100\% = 0,36\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ulangan Ke- 2} = \frac{57,6910 - 57,6822}{2,1332} \times 100\% = 0,41\%$$

$$\text{Rata-rata Kadar Abu} = \frac{0,36 + 0,41}{2} = 0,38\%$$

Lampiran 10. Perhitungan Larutan Uji Konsentrasi Hambat Minimum

1. Larutan Stok 50% dalam 20 ml DMSO

$$\text{Larutan Konsentrasi 50\%} = \frac{50}{100} = \frac{x}{20}$$

$$x = \frac{50 \times 20}{100} = 10 \text{ gram}$$

2. Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Hijau

$$\text{Pengenceran : } V1 \times N1 = V2 \times N2$$

a. Pengenceran 3%

$$V1 \times 50 = 10 \times 3 = \frac{10 \times 3}{50} = 0,6 \text{ mL}$$

b. Pengenceran 5%

$$V1 \times 50 = 10 \times 5 = \frac{10 \times 5}{50} = 1 \text{ mL}$$

c. Pengenceran 7%

$$V1 \times 50 = 10 \times 7 = \frac{10 \times 7}{50} = 1,4 \text{ mL}$$

d. Pengenceran 9%

$$V1 \times 50 = 10 \times 9 = \frac{10 \times 9}{50} = 1,8 \text{ mL}$$

e. Pengenceran 11% =

$$V1 \times 50 = 10 \times 11 = \frac{10 \times 11}{50} = 2,2 \text{ mL}$$

3. Konsentrasi Ekstrak Rimpang Kunyit

$$\text{Pengenceran : } V1 \times N1 = V2 \times N2$$

a. Pengenceran 5%

$$V1 \times 50 = 10 \times 5 = \frac{10 \times 5}{50} = 1 \text{ mL}$$

b. Pengenceran 10%

$$V1 \times 50 = 10 \times 10 = \frac{10 \times 10}{50} = 2 \text{ mL}$$

c. Pengenceran 15%

$$V1 \times 50 = 10 \times 15 = \frac{10 \times 15}{50} = 3 \text{ mL}$$

d. Pengenceran 20%

$$V1 \times 50 = 10 \times 20 = \frac{10 \times 20}{50} = 4 \text{ mL}$$

Lampiran 11. Perhitungan Larutan Pembanding

Pengenceran Klindamisin 300 mg → 6 ppm

- Dibuat larutan induk 3000 ppm

$$\frac{300 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{300 \text{ mg}}{0,1 \text{ L}} = 3000 \text{ ppm}$$

- Pengenceran → 6 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 3000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 6 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 6 \text{ ppm}}{3000} = 0,2 \text{ ml dalam } 100 \text{ mL pelarut aquadest steril.}$$

Lampiran 12. Perhitungan Larutan Uji Diameter Daya Hambat

Dibuat Ekstrak etanol 96% daun sirih hijau dan rimpang kunyit dengan konsentrasi daun sirih hijau tunggal 11% (P1), rimpang kunyit tunggal 15% (P2), dan kombinasi dengan konsentrasi 2:1 (10% :5%) (P3), 1:2 (5%:10%) (P4) dan 1:1 (7,5%:7,5%) (P5) dalam 10 mL DMSO 10%.

a. Konsentrasi daun sirih hijau 11% = $\frac{11 \times 10}{100} = 1,1$ g dalam 10 ml DMSO 10%

b. Konsentrasi Rimpang kunyit 15% = $\frac{15 \times 10}{100} = 1,5$ g dalam 10 ml DMSO 10%

c. Konsentrasi 2:1 (10% :5%)

Daun sirih hijau 10% = $\frac{10 \times 10}{100} = 1$ g dalam 10 ml DMSO 10%

Rimpang kunyit 5% = $\frac{5 \times 10}{100} = 0,5$ g dalam 10 ml DMSO 10%

d. Konsentrasi 1:2 (5%:10%)

Daun sirih hijau 5% = $\frac{5 \times 10}{100} = 0,5$ g dalam 10 ml DMSO 10%

Rimpang kunyit 10% = $\frac{10 \times 10}{100} = 1$ g dalam 10 ml DMSO 10%

e. Konsentrasi 1:1 (7,5%:7,5%)

Daun sirih hijau 7,5% = $\frac{7,5 \times 10}{100} = 0,75$ g dalam 10 ml DMSO 10%

Rimpang kunyit 7,5% = $\frac{7,5 \times 10}{100} = 0,75$ g dalam 10 ml DMSO 10%

Lampiran 13. Perhitungan Rata - Rata Hasil Diameter Daya Hambat

Perlakuan	Ulangan 1 (mm)	Ulangan 2 (mm)	Ulangan 3 (mm)	Rata-Rata ± SD
P1	9,5	11,1	8,5	9,7 ± 1,3114
P2	8,2	7,7	8	7,96 ± 0,2516
P3	18,1	17,9	14,3	16,76 ± 2,1385
P4	11,8	11	9,6	10,8 ± 1,1135
P5	13,9	11,7	9,1	11,56 ± 2,4027
K+	23,9	27,2	22,1	24,4 ± 2,5865
K-	0	0	0	0 ± 0

$$\text{Rata - rata} = \frac{\text{Diameter vertikal} + \text{Diameter horizontal}}{2}$$

Perlakuan P1

- Ulangan 1 = $\frac{9,7+9,4}{2} = 9,5$ mm
- Ulangan 2 = $\frac{11,1+11,1}{2} = 11,1$ mm
- Ulangan 3 = $\frac{8,4+8,6}{2} = 8,5$ mm

Perlakuan P2

- Ulangan 1 = $\frac{8,2+8,2}{2} = 8,2$ mm
- Ulangan 2 = $\frac{7,7+7,7}{2} = 7,7$ mm
- Ulangan 3 = $\frac{8+8}{2} = 8$ mm

Perlakuan P3

- Ulangan 1 = $\frac{18,1+18,1}{2} = 18,1$ mm
- Ulangan 2 = $\frac{18,1+17,7}{2} = 17,9$ mm
- Ulangan 3 = $\frac{14,3+14,3}{2} = 14,3$ mm

Perlakuan P4

- Ulangan 1 = $\frac{11,7+11,9}{2} = 11,8$ mm
- Ulangan 2 = $\frac{11+11}{2} = 11$ mm
- Ulangan 3 = $\frac{9,6+9,6}{2} = 9,6$ mm

Perlakuan P5

- Ulangan 1 = $\frac{14,1+13,7}{2} = 13,9$ mm
- Ulangan 2 = $\frac{11,7+11,7}{2} = 11,7$ mm
- Ulangan 3 = $\frac{9,1+9,1}{2} = 9,1$ mm

Perlakuan K+

- Ulangan 1 = $\frac{23,9+23,9}{2} = 23,9$ mm
- Ulangan 2 = $\frac{27,3+27,1}{2} = 27,2$ mm
- Ulangan 3 = $\frac{22,1+22,1}{2} = 22,1$ mm

$$\text{Rata - rata} = \frac{\text{ulangan 1} + \text{ulangan 2} + \text{ulangan 3}}{3}$$

- P1 = $\frac{9,5+11,1+8,5}{3} = 9,7$ mm
- P2 = $\frac{8,2+7,7+8}{3} = 7,96$ mm
- P3 = $\frac{18,1+17,9+14,3}{3} = 16,76$ mm
- P4 = $\frac{11,8+11+9,6}{3} = 10,8$ mm
- P5 = $\frac{13,9+11,7+9,1}{3} = 11,56$ mm
- K+ = $\frac{23,9+27,2+22,1}{3} = 24,4$ mm

Lampiran 14. Analisis Data Diameter Daya Hambat (DDH)

A. Uji Homogenitas One Way Anova

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Daya Hambat	Based on Mean	2.622	6	14	0.064
	Based on Median	0.929	6	14	0.504
	Based on Median and with adjusted df	0.929	6	6.899	0.528
	Based on trimmed mean	2.480	6	14	0.076

Hipotesis :

H₀ = nilai variabel x berasal dari populasi yang homogen

H₁ = nilai variabel x bukan berasal dari populasi yang homogen

Kriteria keputusan :

Jika $\text{sig} > \alpha$ (0.05) maka H₀ ditolak, H₁ diterima

Jika $\text{sig} < \alpha$ (0.05) maka H₀ ditolak, H₁ diterima

Kesimpulan :

Berdasarkan hasil uji homogenitas diperoleh nilai sig pada Based on Mean adalah $0.064 > 0,05$ maka terima H₀, tolak H₁. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa data variabel berasal dari populasi yang homogen

B. Uji Perbedaan ANOVA

ANOVA

Diameter Daya Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1027.640	6	171.273	59.766	<0,001
Within Groups	40.120	14	2.866		
Total	1067.760	20			

Hipotesis :

H₀ = Tidak ada perbedaan diameter daya hambat yang dihasilkan dari berbagai perlakuan

H1 = Ada perbedaan diameter daya hambat yang dihasilkan dari berbagai perlakuan

Kriteria keputusan :

Jika $\text{sig} > \alpha$ (0.05) maka Ho ditolak, H1 diterima

Jika $\text{sig} < \alpha$ (0.05) maka Ho ditolak, H1 diterima

Kesimpulan :

Berdasarkan hasil uji perbedaan diperoleh nilai $\text{sig} 0.001 < 0,05$ maka terima H1, tolak Ho. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan diameter daya hambat yang dihasilkan dari berbagai perlakuan.

C. Uji Lanjut Duncan

Homogeneous Subsets

		Diameter Daya Hambat				
Duncan ^a		Subset for alpha = 0.05				
Perlakuan	N	1	2	3	4	5
K-	3	0.000				
P2	3		7.967			
P1	3		9.700	9.700		
P4	3		10.800	10.800		
P5	3			11.567		
P3	3				16.767	
K+	3					24.400
Sig.		1.000	0.071	0.220	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Keterangan

P1 = Ekstrak tunggal daun sirih hijau 11%

P2 = Ekstrak tunggal rimpang kunyit 15%

P3 = Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 10% dan rimpang kunyit 5%

P4 = Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 5% dan rimpang kunyit 10%

P5 = Ekstrak kombinasi daun sirih hijau 7.5% dan rimpang kunyit 7,5%

K+ = Kontrol positif (Klindamisin 6 ppm)

K- = Kontrol negatif (Larutan DMSO 10%)

Kesimpulan :

Berdasarkan Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa Perlakuan K- memberikan pengaruh berbeda nyata dengan Perlakuan P1, P2, P3 dan P4. Perlakuan P2, P1 dan P4 memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata dan perlakuan P1, P4 dan P5 memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata, sedangkan pada perlakuan P3 dan K+ memberikan pengaruh yang berbeda nyata. perlakuan yang memberikan pengaruh yang paling besar yaitu K+ yang merupakan kontrol positif dan P3 yang merupakan kombinasi ekstrak daun sirih hijau 10% dan rimpang kunyit 5%. selain itu perlakuan yang memebrrikan pengaruh kecil terhadap diameter daya hambat yaitu K- yang merupakan kontrol negatif dan P2 yang merupakan ekstrak tunggal rimpang kunyit 15%