

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN
SIRIH TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*
SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA**

**Skripsi
untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-1**

Program Studi Kimia



**diajukan oleh:
Hendra Cahyono
05630025**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2012**



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp :

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Hendra Cahyono

NIM : 05630025

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam bidang Kimia.

Dengan ini kami mengharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 20 Februari 2012

Pembimbing,

Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech.

NIP. 19760830 200312 2 001

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Nota Dinas Konsultan Skripsi

Lamp :

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku konsultan berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Hendra Cahyono

NIM : 05630025

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih
Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*
Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Bidang Kimia.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 13 Maret 2012

Konsultan,



Maya Rahmayanti, M.Si
NIP. 19810627 200604 2 003

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Nota Dinas Konsultan Skripsi

Lamp :

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku konsultan berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Hendra Cahyono
NIM : 05630025
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih
Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*
Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Bidang Kimia.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 14 Maret 2012
Konsultan,



Arifah Khusnuryani, M.Si.
NIP. 19750515 200003 2 00 1

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hendra Cahyono

NIM : 05630025

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa Skripsi saya yang berjudul:

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya

merupakan hasil penelitian saya sendiri dan bukan duplikasi ataupun saduran dari karya orang lain kecuali pada bagian secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti adanya penyimpangan dalam karya ini maka tanggung jawab sepenuhnya ada pada penulis.

Yogyakarta, 20 Februari 2012

Penulis,


METERAI
TEMPEL
RAJAKEMENDAGRI
71
BD6C0AAF864357569
ENAM RIBU RUPIAH
6000 DUP

Hendra Cahyono

NIM. 05630025



PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/1095/2012

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul : Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta Identifikasi Senyawa Aktifnya

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Nama : Hendra Cahyono
NIM : 05630025
Telah dimunaqasyahkan pada : 6 Maret 2012
Nilai Munaqasyah : A / B
Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

Esti Wahyu Widowati, M.Si, M.Biotech
NIP.19760830 200312 2 001

Penguji I

Maya Rahmayanti, M.Si
NIP. 19810627 200604 2 003

Penguji II

Arifah Khusnuryani, M.Si
NIP.19750515 200003 2 001

Yogyakarta, 7 Mei 2012
UIN Sunan Kalijaga
Fakultas Sains dan Teknologi
Dekan



Prof. Drs. H. Akh. Minhaj, M.A, Ph.D
NIP. 19580914 198603 1 002

MOTTO

*On this road halt is out of place
A static condition means death
Those on the move have gone a head
Those who tarried, even a while, got chrushed*

“Berhenti, tidak ada tempat di jalan ini
Sikap lamban berarti mati
Mereka yang bergerak, merekalah yang maju ke muka
Mereka yang menunggu, meski sejenak, pasti tergilas”
(dikutip dari Puisi M. Iqbal)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur kepada Allah swt.

**Dalam tabularasa yang tak terhingga
dan Shalawat kepada Muhammad saw.**

Kupersembahkan karya ini untuk:

Bapak dan Ibu tercinta

Kakak dan Adikku tersayang

Si Bungsu dengan segala ekspektasi dan semangatnya

Sahabat hatiku

Seluruh penikmat ilmu kimia

Almamaterku

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT kami panjatkan atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam semoga senantiasa terlimpahkan kepada junjungan kita nabi besar Muhammad SAW, keluarganya, para sahabatnya, dan seluruh umatnya, yang mengamalkan sunnah-sunnahnya, *Amin*.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari semua pihak yang telah memberikan bimbingan, bantuan, saran, dan nasehat. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Drs. H. Akh. Minhaji, MA. Ph.D. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga.
2. Ibu Esti Wahyu Widowati, M.Si, M.Biotech. selaku dosen pembimbing dan Ketua Prodi Kimia UIN Sunan Kalijaga.
3. Bapak Khamidinal, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik.
4. Bapak Wijayanto, S.Si., Indra Nafiyanto, S.Si., dan Isni Gustani S.Si. selaku laboran Laboratorium Kimia UIN Sunan Kalijaga yang selalu membantu dan berbagi pengetahuan, serta pengarahannya selama melakukan penelitian.
5. Bapak dan Ibu tercinta, kakak dan adik tersayang yang selalu mendo'akan penyusun serta memberikan dorongan baik moril maupun materil yang tidak ternilai harganya.

6. Bapak M. Ridwan dan keluarga, yang selalu memotivasi, membimbing, mengarahkan dan mengingatkan penyusun dikala melakukan kesalahan.
7. Rekan-rekan sepenelitian, Mb Linda, Mb Yanti dan Luluk, yang selalu menemani dan membantu saat kesulitan, kekurangan bahan maupun alat dalam penelitian.
8. *My Private Motivator*, yang selalu memotivasi dan membantu dalam suka dan duka.
9. Irvan rivai, Wahyu Purnomo, S. Nasiyah S., Habiburahman, Deni S., dan semua teman-teman Program Studi Kimia angkatan 2005, serta rekan-rekan di laboratorium kimia.
10. Pemuda Muhammadiyah Gondokusuman, Remala, Rismaba dan Risma Yaumig, teman aktivitas dalam ber-*fastabiqul khairat*.
11. Serta semua pihak yang tidak dapat penyusun sebutkan satu-persatu yangtelah banyak membantu tersusunnya skripsi ini.

Semoga amal baik dan segala bantuan yang telah diberikan kepada penyusun mendapatkan balasan dari Allah SWT. Akhir kata, penyusun mohon maaf yang sebesar-besarnya apabila dalam penyusunan skripsi ini terdapat kesalahan dan kekurangan. Semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi penyusun dan pembaca sekalian.

Yogyakarta, 20 Februari 2012
Penyusun

Hendra Cahyono

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN NOTA DINAS KONSULTAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
HALAMAN MOTTO	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAKSI	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	5
B. Landasan Teori	7
1. Uraian Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> Linn.)	7
a. Sistematika	7
b. Deskripsi Tanaman	7

c. Kandungan Kimia.....	8
d. Beberapa Manfaat Daun Sirih	8
2. Metabolit Sekunder	9
a. Senyawa Fenol.....	11
b. Terpenoid	13
c. Alkaloid	16
3. Bakteri	17
4. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
5. <i>Escherichia coli</i>	23
6. Antibakteri	25
7. Media	29
8. Sterilisasi	31
9. Uji Aktivitas Antibakteri	33
a. Metode Dilusi	33
b. Metode Difusi	33
10. Skrining Fitokimia	35
a. Uji Senyawa Fenol dan Flavanoid	36
b. Uji Senyawa Kumarin dan Antrakuinon	37
c. Uji Terpenoid	37
d. Uji Alkaloid	38
11. Kromatografi Lapis tipis	38
12. Ekstraksi	42
13. KLT-Bioautografi	43

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian	45
B. Alat dan Bahan	45
C. Prosedur Penelitian	46
1. Persiapan Penelitian	46
2. Identifikasi Metabolit Sekunder	47
3. Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	48

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	50
B. Skrining Fitokimia	53
C. Uji Aktivitas Antibakteri	56
D. <i>MIC (Minimum Inhibitory Concentration)</i>	59
E. KLT-Bioautografi	60

BAB V. PENUTUP

A. Kesimpulan	63
B. Saran-saran	63

DAFTAR PUSTAKA	64
-----------------------------	----

LAMPIRAN	68
-----------------------	----

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbedaan susunan dinding sel bakteri	20
Tabel 2. Hasil KLT <i>crude extract</i> etil asetat daun sirih dengan berbagai sistem pelarut	51
Tabel 3. Hasil Skrining fitokimia ekstrak etil asetat	55
Tabel 4. Data Pengenceran dan diameter zona hambat ekstrak etil asetat terhadap bakteri <i>E. Coli dan S. Aureus</i>	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Biosintesis Metabolit Sekunder	10
Gambar 2. Struktur dasar Fenilpropanoid	11
Gambar 3. Struktur beberapa jenis fenilpropanoid	12
Gambar 4. Struktur Antrakuinon	12
Gambar 5. Tiga Jenis struktur senyawa Flavanoid	13
Gambar 6. Mekanisme biosintesis senyawa terpenoid.....	15
Gambar 7. Struktur beberapa Terpenoid	15
Gambar 8. Struktur beberapa Senyawa Alkaloid	17
Gambar 9. Struktur Sel Bakteri	19
Gambar 10. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Gambar 11. Bentuk dan susunan <i>E. coli</i>	23
Gambar 12. Densitogram dua dimensi dari pemisahan ekstrak etil asetat pada plat KLT	52
Gambar 13. Skrining fitokimia	54
Gambar 14. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat	57
Gambar 15. <i>MIC</i> Ekstrak etil asetat	60
Gambar 16. KLT-Bioautografi	61

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Penghitungan Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat (Larutan Stok)	68
Lampiran 2. Pengenceran Larutan Stok	69
Lampiran 3. Hasil KLT	70
Lampiran 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dan Penentuan <i>MIC</i>	71
Lampiran 5. Dokumentasi	75
Lampiran 6. Data densitometri.....	76
Lampiran 7. Indeks polaaritas pelarut.....	77
Lampiran 8. Diagram Cara Kerja.....	78

ABSTRAK
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN
SIRIH TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*
SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA

Oleh :
Hendra Cahyono
05630025

Dosen Pembimbing : Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech.

Sirih mengandung berbagai senyawa aktif, salah satunya berpotensi sebagai antibakteri. Potensi tersebut perlu kajian empiris sebagai bahan pertimbangan untuk eksplorasinya secara maksimal dan terarah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih terhadap *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*.

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah etil asetat. Identifikasi metabolit sekunder dilakukan dengan KLT-densitometri dan skrining fitokimia. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan *paper disc*. *Profiling* metabolit sekunder yang menghambat pertumbuhan bakteri, dilakukan dengan KLT-Bioautografi.

Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun sirih menunjukkan adanya fenol dan steroid/terpenoid. Senyawa tersebut berperan sebagai antibakteri dalam KLT-Biautografi. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dari adanya zona hambat terhadap bakteri dalam *petri dish*. *MIC* untuk bakteri *Escherichia coli* adalah 18.000 ppm, sedangkan untuk *Staphylococcus aureus* 10.000 ppm.

Kata kunci : Antibakteri, KLT-Bioautografi, *MIC*, *Piper betle* Linn., skrining fitokimia.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penemuan obat-obatan modern seperti sekarang ini, melibatkan pengalaman manusia dalam memanfaatkan tanaman yang tumbuh di sekitarnya untuk memelihara kesehatan dan mengatasi penderitaan akibat penyakit. Pengalaman yang turun-temurun mengakibatkan dikenalnya berbagai tanaman yang dinyatakan berkhasiat terhadap penyakit-penyakit tertentu. Penelitian-penelitian ke arah penemuan zat berkhasiat baru, masih bersifat insidental dan sporadik, meskipun harus diakui bahwa proses yang harus ditempuh untuk mendapatkan zat yang benar-benar berkhasiat sangat panjang dan melelahkan. Walaupun demikian, hal tersebut seharusnya tidak menjadi hambatan, mengingat wilayah Indonesia sangat kaya akan berbagai tanaman berkhasiat.

Salah satu famili tumbuhan tingkat tinggi yang berpotensi sebagai sumber bahan kimia hayati bioaktif adalah famili *Piperaceae*, famili ini terdiri atas kurang lebih 1300 spesies yang terbagi dalam sepuluh genus, salah satunya adalah sirih (*Piper betle* Linn).¹ Sirih adalah tanaman yang tumbuh subur di daerah tropis dan telah digunakan sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi potensi tanaman ini, dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa tanaman ini

¹ Gembong Tjitrosoepomo, *Taksonomi Tumbuhan* (Spermatophyta), (Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 1988), hlm. 19-21.

bermanfaat sebagai antifungi, antibakteri, antioksidan, antiinflamasi dan *antifertility*.

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam tanaman sirih tidak seluruhnya merupakan senyawa polar, namun juga terdapat senyawa non-polar ataupun semi polar dan bersifat lipofil, sebagaimana yang terkandung pada tanaman tingkat tinggi pada umumnya. Beberapa potensi tanaman sirih telah dilaporkan, diantaranya sebagai antibakteri.² Potensi tersebut merupakan hasil penelitian dari ekstrak polar dan non polar daun sirih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak polar daun sirih lebih efektif sebagai antibakteri daripada ekstrak non polarnya. Profiling metabolit sekunder dilakukan melalui teknik KLT-Bioautografi, yaitu metode yang menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis dan aktivitas biologi dari suatu analit yang berupa antibakteri.³ Penelitian lainnya melaporkan bahwa ekstrak metanol daun sirih tidak memiliki potensi sebagai antifungi daripada ekstrak etil asetat dan *n*-heksana-nya, yang disebabkan oleh kemungkinan lebih banyaknya senyawa yang terlarut dalam metanol, sedangkan senyawa aktif daun sirih lebih larut dalam pelarut etil asetat dan *n*-heksana.⁴ Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian kembali terhadap tanaman sirih, khususnya ekstrak semi polar daun sirih untuk memberikan tambahan informasi tentang potensi sirih sebagai antibakteri.

² Rini D. Moeljanto, *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab dari Masa ke Masa*, (Jakarta: PT. Agromedia Pustaka, 2003)

³ S. Nasyiah Sholeh, *Uji Aktivitas Ekstrak n-heksanaa dan Etanol Daun Sirih terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli dan Basillus Subtillis dan Identifikasi Senyawa Aktifnya* (Yogyakarta: Skripsi Fakultas Saintek UIN Suka, 2009)

⁴ Esti.W. Widowati, *Antifungal Activity of Piper betle L. (Sirih) Leaves*, Makalah pada Prosiding The First International Seminar on Science and Technology, Januari 2009.

Penelitian dilakukan untuk menguji potensi antibakteri ekstrak daun sirih dari pelarut semi polar, etil asetat, dengan metode difusi agar menggunakan *paper disc* yang dilanjutkan dengan penentuan *MIC*. *MIC* (*Minimum Inhibition Concentration*) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari suatu antimikroba yang akan menghambat pertumbuhan organisme, yang terlihat setelah inkubasi selama 24 jam.⁵ Pemilihan etil asetat sebagai pelarut dalam maserasi pada penelitian ini juga karena etil asetat dapat mengurangi asetilasi bahan alam yang mengandung fungsi hidroksil bebas. Sedangkan beberapa alkohol seperti metanol, etanol dan *n*-butanol, dapat bereaksi dengan bahan alam yang mengandung gugus karboksilat bebas untuk menghasilkan karboksil ester yang sesuai.⁶

B. Rumusan masalah

Sesuai dengan uraian latar belakang di atas, maka masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas ekstrak etil asetat daun sirih dalam menghambat pertumbuhan bakteri?
2. Bagaimana profil metabolit sekunder dalam ekstrak etil asetat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri berdasarkan nilai Rf-nya?
3. Berapa *MIC* (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak etil asetat daun sirih yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri?

⁵ Jenifer M. Andrews, *Determination of Minimum Inhibitory Concentrations*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 48, Issue suppl. 1, 2001, p. 5-16.

⁶ Rensheng Xu, Weimin Zhao, Yang Ye, *Introduction To Natural Product Chemistry*, (Beijing: Science Press, 2010), p. 7

C. Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Menguji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Memperoleh profil metabolit sekunder ekstrak etil asetat daun sirih yang menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* melalui teknik KLT-bioautografi.
3. Menentukan *MIC* (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak etil asetat dari daun sirih yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi tentang potensi tanaman sirih sebagai antibakteri, terutama dalam isolasi senyawa aktifnya.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat dipengaruhi oleh senyawa fenol dan steroid/terpenoid yang terkandung di dalamnya. Dilihat dari zona hambat dan nilai *MIC*, Ekstrak etil asetat lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif.
2. Profil metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji dapat diketahui berdasarkan nilai *R_f* dari KLT-Bioautografi, yaitu 0,4 dan 0,7. Sesuai hasil skrining fitokimia, senyawa dengan nilai *R_f* tersebut adalah steroid/terpenoid dan fenol.
3. Nilai *MIC* (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak etil asetat daun sirih terhadap *S.aureus* adalah 10.000 ppm, sedangkan terhadap *E.coli* adalah 18.000 ppm.

B. Saran

1. Perlu dilakukan uji secara klinis untuk mengetahui kemampuan daun sirih sebagai sumber herbal alternatif antibakteri.
2. Perlu dilakukan eksplorasi lain untuk meningkatkan potensi sirih selain sebagai antibakteri dan antifungi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahluwalia, VK. and Sunita Dhingra. 2000. *Comprehensive Partical Organic Chemistry: Qualitative Analysis*. India: Universities Press.
- Andrews, Jenifer M. 2001. *Determination of Minimum Inhibitory Concentrations*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 48, Issue suppl. 1
- Anonim. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Bina Aksara Rupa.
- Anonim. 1993. *Dasar-Dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*. Fakultas Kedokteran UGM: Yogyakarta.
- Anonim. 2004. *Guidelines For Drinking-water Quality* Vol. 1, 3rd ed. Geneva: WHO.
- Anonim, 2008. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol 6, No.2.
- Anonim. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Depkes RI.
- Basset,J., R.C. Denney, G.H. Jeffery, dan J.Mendham. 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: EGC.
- Bibiana, *Analisis Mikroba di Laboratorium* (Jakarta: Raja Grafindo Persada.1994
- Boyer,Rodney. 2006. *Biochemistry Laboratory Modern Theory of Techniques*. San Fransisco: Pearson Education.
- Bremer, P.J., G. C. Fletcher, and C. Osborne. 2004.*Staphylococcus aureus*. New Zealand: New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited.
- Bridson, 2006. *The Oxoid Manual 9th*. Hampshire: Oxoid Limited.
- Caburian, Adeltrudes B. dan Marina O. Osi, 2010. *Characterization and Evaluation of Antimicrobial Activity of the Essential Oil from the Leaves of Piper betle L.*, (Saint Louis University, Manila, E-International Scientific Research Journal, ISSN: 2094-1749 Volume: 2 Issue: 1.
- Cook, Lisa F. and Kevin F. Cook. 2006. *Deadly Diseseases and Epidemics: Staphylococcus aureus Infection*. USA: Chelsea house publishers.
- Cook, Lisa F. and Kevin F. Cook. 2005. *Deadly Diseseases and Epidemics: Escherichia coli Infection*. USA: Chelsea house publishers.
- Dwijoseputro. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djembatan.
- Dwi Rahayu, Ambang. 2006. *Aloe barbadensis Miller dan Aloe chinensis Baker Sebagai Antibiotik Dalam Pengobatan Etnoveteriner Unggas Secara Invitro*. Universitas Muhamadiyah Malang.
- Entjang. 2001. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan*. Bandung: PT. Hermawan, Anang., Hana Eliayani dan Wiwik tyasningsih. 2005. *Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle L.) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aures dan Escherichia Coli dengan Metode Difusi Disk*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Farida, Juliantina. *Manfaat Sirih Merah (Piper Crocatum) Sebagai Agent Antibacterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.543-532-1-PB
- Friea, Joseph Sherma Bernard. *Handbook of Thin Layer Chromatography*. New York: Marcel Dekker.
- Ganiswarna, G.S., R. Setiabudy, D.F. Suyatno, Purwantiyaningsih, Nafrialdi. 1995. *Farmakologi dan Terapi* edisi IV. Jakarta: EGC.
- Ghosh, K. and Bhattacharya, T.K. 2005. *Chemical Constituent of Piper betle Linn. (Piperaceae) Roots, Molucules, vol. 10, 798-802, ISSN 1420-3049*. Kolkata: Calcutta University.
- Gritter,Roy J., James M. Bobbit, and Arthur E. Schwarting. 1990. *Pengantar Kromatografi Edisi kedua*. Terjemah oleh Kosasih Padmawinata Bandung: ITB.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Herbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Edisi ke-2, cetakan ke-1, terjemahan Bambang Srigandono. Semarang: IKIP Press.
- Hofman, David. 2003. *Medical Herbalism, The cience and Practice of Herbal Medicine*.Vermont: Heling Arts Press.
- Hostettmann, K., M. Hostettmann, A. Marston. 1995. *Cara Pengantar Kromatorafi*. terjemah oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- <http://www.cehs.siu.edu/fix/medmicro/genmicr.htm> (akses pada 3 Desember 2011)
- Jawet, E., J.L. Malnick, F.A. Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Untuk profesi Kesehatan* Edisi IV. Jakarta: EGC.
- Jork, Hellmut., Werner Funk, Walter Fischer, and Hans Wimmer. 1990. *Thin-Layer Chromatography "Reagen and Detection Methods*. Weinhem:VCH.
- Kang, Henry R. 2006. *Computational Color technology*. USA: SPIE.
- Katrin, Ermin. dan Hendig Winarno. *Cytotoxic Activity Of Some Fractions From Ethyl Acetate Extract Of The Bark Of Mahkota Dewa [Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl] Against Human Cancer Cell Lines*. Fakultas Farmasi UGM-IAI DIY, Journal of Traditional Madicine. ISSN 1410-5918, online: <http://mot.farmasi.ugm.ac.id>, 7 Februari 2012
- Komayaharti, Anie., dan Dwi Paryanti. 2005. *Ekstrak Daun Sirih Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa*. Semarang: Fak. Teknik Universitas Diponegoro
- Lenny, Sovia. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Medan: Karya Ilmiah USU.

- Lenny, Sovia. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Medan: Karya Ilmiah USU.
- Mann, J., R.S. Davidson, J.B. Hobbs, and J.B. Harborne. 1994. *Natural Product :Their Chemistry and Biological Significance*. London:Longman.
- Moeljanto, Rini D. 2003. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab dari Masa ke Masa*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Nalina T. and Z.H. Rahim. 2007. *The Crude Aqueous Extract of Piper betle L. and Its Antibacterial Effect Towards Streptococcus mutans*. American Journal of Biotechnology and Biochemistry 3(1): 10-15, Kuala Lumpur: University of Malaya.
- Nelson, Kenrad E., Carolyn M. Illiams, Neil M.H. Graham. 2006. *Infectious Disease Epidemiologi: Theory and Practice*. Burlington, US: Jones & Bartlett Learning.
- Pelezar and Chan. 1988. *Dasar-Dasar mikrobiologi*, jilid 1 dan 2. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Rensheng Xu. Weimin Zhao. and Yang Ye. 2010. *Introduction To Natural Product Chemistry*. Beijing: Science Press.
- Richard J.P. 1998. *Natural Products and Isolation*. New Jersey: Cannell Humana Press.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*, edisi 2. Yogyakarta: Liberty.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Salni, Hanifa arisa, dan Ratna Wedya Mukti. 2011 *Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (Pithecolobium lobatum Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya*, Jurnal Penelitian Sains Volume 14 Nomer 1(D) 14109. Indonesia: Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan.
- Sharma, J.D., Lalita Sharma and Poonam Yadav, *Antifertility Efficacy of Piper betle Linn. (Petiole) on Female Albino Rats*, Reproductive Physiology and Environmental Toxicology Laboratory, Department of Zoology, University of Rajasthan, India. *Asian J. Exp. Sci.*, Vol. 21, No. 1, 2007, 145-150.
- Sholeh, S. Nasyiah. 2009. *Uji Aktivitas Ekstrak n-heksanaa dan Etanol Daun Sirih terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli dan Basillus Subtillis dan Identifikasi Senyawa Aktifnya*. Yogyakarta: Skripsi Fakultas Saintek UIN Suka.
- Sinder, Liloyd R., Joseph J. Kirkland and John W. Dolan. 2010. *Introduction to Modern liquid Chromatography Third edt*. Canada: Wiley.
- Singleton, Paul. 2004. *Bacteria In Biology, Biotechnology and Madicine*, 6th Edition, England: John Wiley and Sons Ltd.

- Stahl, Egon. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Makroskopis*. Bandung: ITB.
- Syamsuhidayat, S.S. dan Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)* (Jakarta: Pusat Penelitian Farmasi, Badan Penelitiandan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia).
- Tepsorn, Racha. 2009 *Antimicrobial Activity of Thai Traditional Medicinal Plants Extract Incorporated Alginate-Tapioca Starch Based Edible Films against Food Related Bacteria Including Foodborne Pathogens*. Thailand: Disertasi Faculty of Agricultural Sciences, Department Environmental and Animal Health University of Hohenheim, Pattani.
- Thomas, A.N.S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional I*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tjay, H.T., dan Rahardja, 1978. *Obat-obat Penting, Khsiat Penggunaan dan Efek Sampingnya*. Edisi IV. Jakarta: Depkes RI.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 1988. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada university Press.
- Verpoorte, R., AW. Alfermann. 2000. *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Netherland: Kluwer Academic Publishers. Online By Springer.
- Volk, A., and FM. Wheleer. 1993. *Mikrobiologi Dasar* Jilid I Edisi IV. Jakarta: Erlangga.
- Wagner,H., S. Bladt, and E.M. Zaganiski. 1984. *Plant Drug Analysis*. Berlin: Spinger Verlag,
- Widowati, Esti.W. 2009. *Antifungal Activity of Piper betle L. (Sirih) Leaves*. Yogyakarta: Makalah pada Prosiding The First International Seminar on Science and Technology

Lampiran 1.**Penentuan Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat (Larutan Stok)**

Diketahui : 1 ppm = 1 mg/L = 1 μ g/mL

$M_{\text{crude extract}}$: 600 mg

$V_{\text{etil asetat}}$: 2 ml

Konsentrasi Ekstrak : 600 mg/2mL

: $300 \cdot 10^3$ mg/L

: $300 \cdot 10^3$ ppm

Lampiran 2.**Pengenceran Larutan Stok**

Diketahui :

 M_1 : 300.00 ppm M_2 : No. 1-30 V_2 : 1 ml = 1000 μ L V_1 : Volum larutan stok yang diencerkan (μ L) V : Volum Etil Asetat untuk pengenceran (μ L)

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

No	M_2 (ppm)	V_1 (μ L)	V (V_2-V_1)	No	M_2 (ppm)	V_1 (μ L)	V (V_2-V_1)
1	275,000	916	84	16	20,000	66	934
2	250,000	833	167	17	18,000	60	940
3	225,000	750	250	18	16,000	53	947
4	200,000	666	334	19	15,000	50	950
5	175,000	583	417	20	12,500	41	959
6	150,000	500	500	21	10,000	33	967
7	125,000	416	584	22	7,500*	150	850
8	100,000	333	667	23	5,000*	100	900
9	90,000	300	700	24	1,000*	20	980
10	75,000	250	750	25	75*	1.5	998.5
11	50,000	166	834	26	50*	1.0	999
12	30,000	100	900	27	25*	0.5	999.5
13	27,500	92	908	28	20*	0.4	999.6
14	25,000	83	917	29	15*	0.3	999.7
15	22,500	75	925	30	5*	0.1	999.9

Keterangan : * Larutan M_1 yang digunakan adalah 50.000 ppm

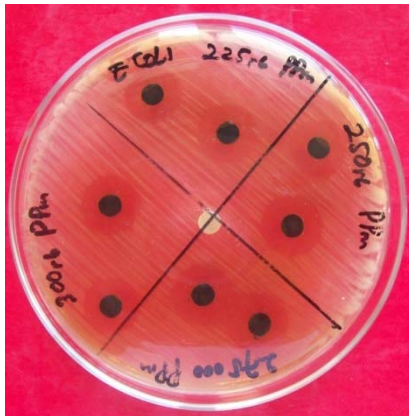
Lampiran 3.**Hasil KLT**

1

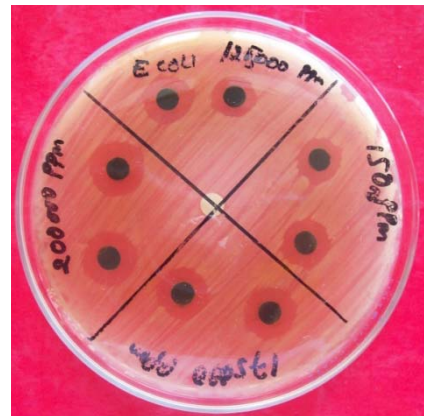


2

1. Dilihat tanpa UV 256 nm
2. Dilihat dengan UV 366 nm

Lampiran 4.**Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dan Penentuan MIC****1. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat terhadap *E. coli***

1



2



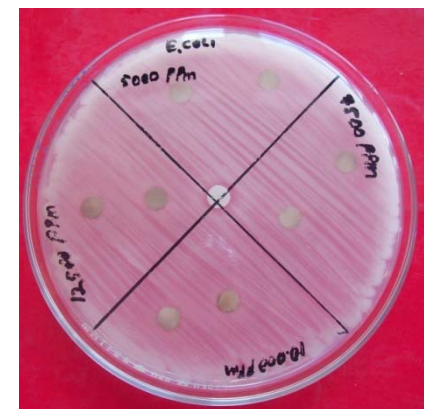
3



4



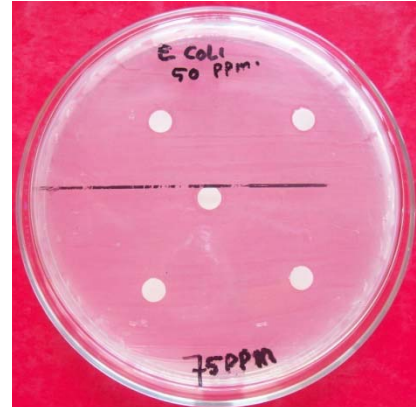
5



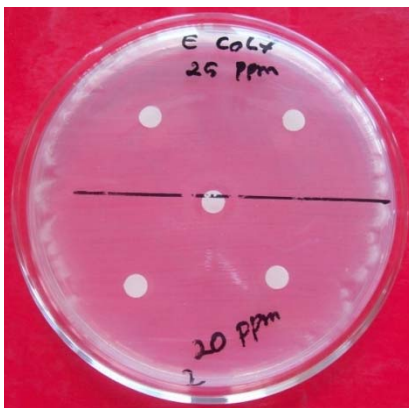
6



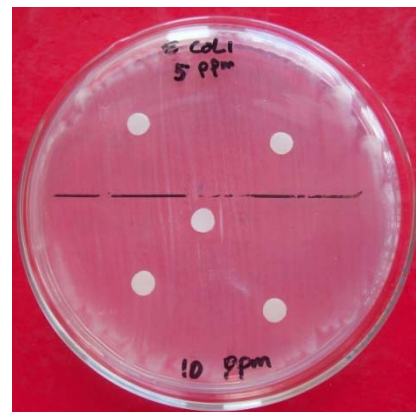
7



8



9



10

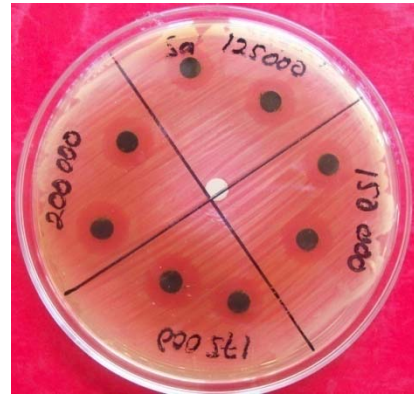
Ketrangan :

1. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 300.000, 275.000, 250.000, dan 225.000 ppm
2. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 200.000, 175.000, 150.000, dan 125.000 ppm
3. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 100.000, 90.000, 75.000, dan 50.000 ppm
4. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 30.000, 27.500, 25.000, dan 22.500 ppm
5. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 20.000, 18.000, 16.000, dan 15.000 ppm
6. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 12.500, 10.000, 7500, dan 5000 ppm
7. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 1000 dan 15 ppm
8. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 75 dan 50 ppm
9. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 25 dan 20 ppm
10. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 10 dan 5 ppm

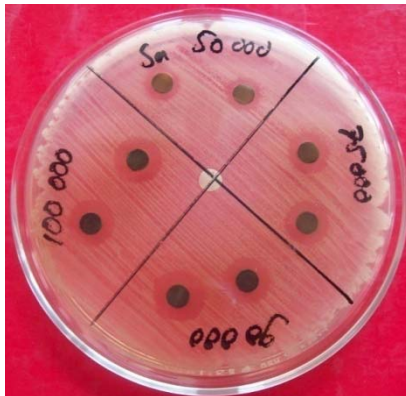
2. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Terhadap *S. aureus*



1



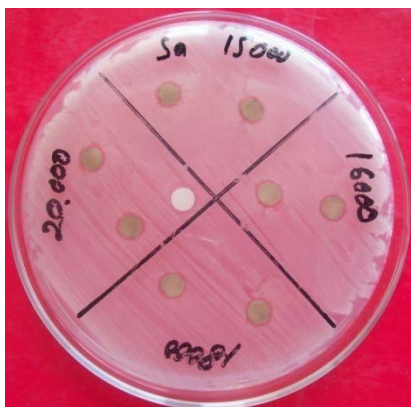
2



3



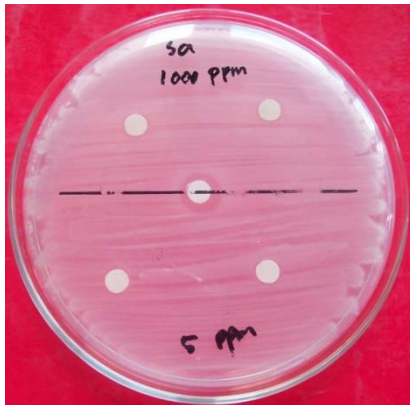
4



5



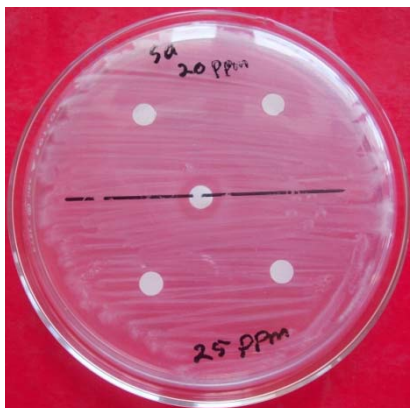
6



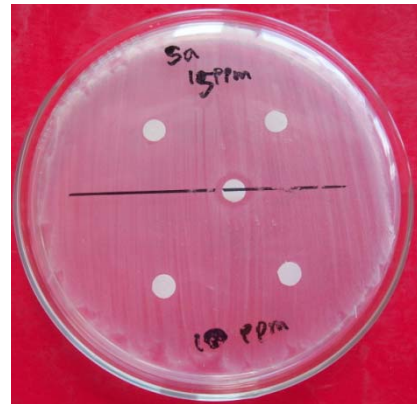
7



8



9



10

Ketrangan :

1. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 300.000, 275.000, 250.000, dan 225.000 ppm
2. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 200.000, 175.000, 150.000, dan 125.000 ppm
3. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 100.000, 90.000, 75.000, dan 50.000 ppm
4. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 30.000, 27.500, 25.000, dan 22.500 ppm
5. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 20.000, 18.000, 16.000, dan 15.000 ppm
6. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 12.500, 10.000, 7500, dan 5000 ppm
7. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 1000 dan 15 ppm
8. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 75 dan 50 ppm
9. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 25 dan 20 ppm
10. Konsentrasi ekstrak etil asetat pada *paper disc* 10 dan 5 ppm

Lampiran 5.**Dokumentasi**

1



2



3



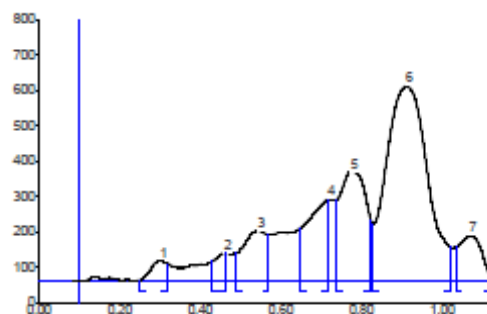
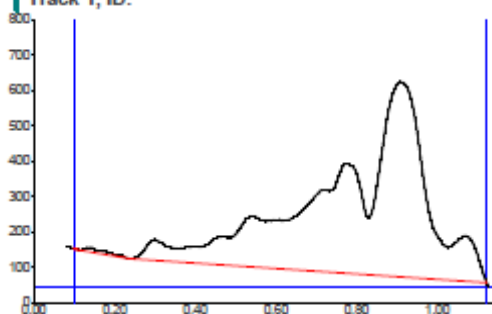
4

Keterangan :

1. Crude extract etil asetat
2. *Laminar air flow cabinet*
3. Autoklaf
4. Inkubator

winCATS Planar Chromatography Manager

Track 1, ID:



Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.25	3.7	0.30	59.6	3.95	0.32	49.6	7192.7	2.06	unknown *
2	0.43	55.6	0.46	80.6	5.35	0.46	79.3	6009.7	1.72	unknown *
3	0.49	79.1	0.54	144.6	9.59	0.57	131.9	27559.0	7.90	unknown *
4	0.65	149.8	0.72	231.5	15.36	0.72	230.3	37974.2	10.88	unknown *
5m	0.74	231.3	0.77	309.6	20.55	0.82	172.2	64750.0	18.55	unknown *
6m	0.83	161.8	0.91	552.2	36.65	1.02	99.1	182295.5	52.22	unknown *
Peak deleted by operator										
7m	1.04	96.0	1.07	128.8	8.55	1.12	10.0	23277.9	6.67	unknown *
Peak deleted by operator										

Evaluation results

Evaluation Sequence

Track	Track type	Vial	Sample ID
1	Sample	1	

Table of substances

Substance	Position Tracks MD mm 1
-----------	----------------------------

Lampiran 7.

Indeks Polaritas Pelarut

Pelarut	Indeks Polaritas
Pentana	0
1,1,2-triklorotrifluoroetana	0
Siklopentana	0,1
Heptana	0,1
Heksana	0,1
Iso oktana	0,1
Petroleum eter	0,1
Sikloheksana	0,2
<i>N</i> -butilklorida	1,0
Toluena	2,4
Metal <i>t</i> -butil eter	2,5
<i>O</i> -xylene	2,5
Klorobenzena	2,7
<i>O</i> -diklorobenzena	2,7
Etil eter	2,8
Diklorometana	3,1
Etilen diklorida	3,5
<i>N</i> -butil alkohol	3,9
Isopropoil alkohol	3,9
<i>N</i> -butil asetat	4,0
Isobutyl alcohol	4,0
Metal isoamil keton	4,0
<i>N</i> -propoil alcohol	4,0
Tetrahidrofuran	4,0
Kloroform	4,1
Metal isobutyl keton	4,2
Etil asetat	4,4
Metal <i>n</i> -propil ketone	4,5
Metal etil ketone	4,7
1,4-dioxana	4,8
Aseton	5,1
Methanol	5,1
Piridin	5,3
2-metoksietanol	5,5
Asetonitrit	5,8
Propilen karbonat	6,1
<i>N</i> - <i>n</i> dimetilformamida	6,4
Dimetil asetamida	6,5
<i>N</i> -metilpirolidon	6,7
Dimetilsulfoksida	7,2
Air	10,2

Lampiran 8.**Diagram Blok Cara Kerja**