

**EFEK EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Bacillus cereus* ATCC
14745 DAN *Shigella flexneri* ATCC 12022 SERTA
MEKANISME PENGHAMBATANNYA**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian syarat
memperoleh derajat Sarjana S1 Program Studi Biologi



disusun oleh
Restuningtias Dwi Prahastiwi
09640019

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2014**



Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga

FM-UINSK-BM-05-07/R0

PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/ 1869 /2014

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul

: Efek Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* ATCC 14745 dan *Shigella flexneri* ATCC 12022 serta Mekanisme Penghambatannya

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

:

Nama : Restuningtias Dwi Prahastiwi

NIM : 09640019

Telah dimunaqasyahkan pada : 13 Juni 2014

Nilai Munaqasyah : A -

Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

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

Pengaji I

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

Pengaji II

Erny Qurotul Ainy, S.Si., M.Si
NIP. 19791217 200901 2 004

Yogyakarta, 25 Juni 2014

UIN Sunan Kalijaga

Fakultas Sains dan Teknologi

Dekan



Prof. Drs. H. Akh. Minhaji, M.A, Ph.D
NIP. 19580919 198603 1 002

**SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR**

Hal :

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 : Restuningtias Dwi Prahastiwi
NIM : 09640019
Judul Skripsi : Efek Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Riz & Pav) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* ATCC 14745 dan *Shigella flexneri* ATCC 12022 serta Mekanisme Penghambatannya

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

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

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta 28 Mei 2014

Pembimbing

Arifah Khushnuryani S. Si., M.Si,
NIP. 19750515 200003 2 001

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : RESTUNINGTIAS DWI PRAHASTIWI

NIM : 09640019

Prodi : Biologi

Semester : X

Fakultas : Sains dan Teknologi

Dengan ini menyatakan bahwa di dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 2 Juni 2014
Pembuat Pernyataan



MOTTO

Tak ada usaha yang tak ada hasilnya. Hanya saja setiap usaha memiliki cara tersendiri untuk menjawab kesuksesannya.
(Tias)

لَهُ وَمُعَقِّبَتُ مِنْ بَيْنِ يَدِيهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ وَمِنْ أَمْرِ اللَّهِ إِنَّ
الَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنفُسِهِمْ وَإِذَا أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ
سُوءًا فَلَا مَرَدَ لَهُ وَمَا لَهُمْ مِنْ دُونِهِ مِنْ وَالٰ ﴿١١﴾

Sesungguhnya ALLAH S.W.T. tidak akan mengubah suatu kaum, kecuali kaum itu sendiri yang mengubah apa-apa yang ada dalam diri mereka. (Ar-Ra'd : 11)

HALAMAN PERUNTUKKAN (*DEDICATION*)

Alhamdulillaah, tak henti terucap syukur kepada ALLAH S.W.T yang selalu memberikan kekuatan dan kesabaran pada penulis hingga titik akhir penulisan skripsi ini. Penulis menyadari, kalau bukan karena ridho dan karunia-NYA, penulis tidak mungkin sampai pada tahap ini.

Kepada kedua orang tua ku, ibu Fatimah dan bapak Suhartoyo, yang sudah mengerti jatuh bangun dalam berproses. Terimakasih atas segala doa, pengorbanan, nasihat dan segenap dukungannya selama ini. Skripsi ini ananda persembahkan untukmu, meskipun ananda tau tak akan mampu membalas segala cinta dan kasih sayangmu.

Kepada adikku Sinta, kaulah pemicu semangatku, keceriaanmu selalu menjadi energi untukku. Terimakasih atas doa dan suntikan semangatnya hingga membuatku tak takut akan kegagalan. Karya kecil ini ku dedikasikan untukmu.

Kepada almamaterku, disinilah jalanku dipertemukan dengan orang-orang hebat yang berpegang teguh pada Islam. Terimakasih telah mengajarkan banyak hal hingga pada akhirnya ku bisa meghasilkan karya sederhana ini. Semoga karya ini bermanfaat.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, serta inayah-Nya yang berupa kesehatan, lindungan, serta bimbingan kepada penulis, sehingga laporan Skripsi yang berjudul “**EFEK EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Bacillus cereus* ATCC 14745 dan *Shigella flexneri* ATCC 12022 SERTA MEKANISME PENGHAMBATANNYA**” ini berjalan dengan lancar dan dapat diselesaikan dengan baik.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai gelar derajat Sarjana-S1 Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta. Penyusunan laporan Skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Drs. H. Akhmad Minhaji, M.A. Ph.D. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Anti Damayanti H,M.Mol Bio. selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Bapak M. Ja'far Luthfi, Ph. D. selaku Dosen Penasehat Akademik.

4. Ibu Arifah Khusnuryani, S. Si., M. Si selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah banyak meluangkan waktu dengan ikhlas dan penuh kesabaran memberikan bimbingan, arahan, motivasi, petunjuk dan segala bentuk bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Erni Qurotul Ainy, S. Si., M. Si dan ibu Esti Wahyu Widowati, M. Si., M. Biotech selaku penguji yang telah banyak memberi banyak bimbingan berupa masukan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
6. Ibu Fatimah dan bapak Suhartoyo tercinta yang senantiasa mengiringi proses ini dengan do'a, pengorbanan dan dukungannya kepada penulis serta memberikan dorongan baik moril maupun materil.
7. Adikku Sinta, matahari kecilku, keceriaanmu adalah pemicu semangat terbesar di hidupku. Terimakasih doa dan dukungannya selama proses skripsi ini.
8. Sahabat sekaligus partner kepercayaanku Ismantoro, yang telah memberi dukungan dalam bentuk doa, motivasi, masukan, dan bantuannya selama proses penyelesaian skripsi ini.
9. Sahabatku tersayang, Vivi, Manda, Winda, Desi dan Enstania, yang telah memberikan suntikan semangatnya dalam proses penggerjaan skripsi ini. ‘always be best friend!!!’.
10. Teman seperjuangan Viroh dan Shilvi serta teman kost Al-Hidayah Saroh, mba Ninis, Zarul dan Dozi yang telah memotivasi dan menguatkan penulis hingga mampu mengerjakan skripsi ini hingga akhir. Matur nuwun.

11. Teman-teman di Lab. Mikrobiologi, mba Titin, mba Elma, mba Afrizka, mba Fenny, mba Marfi, mas Adi, Firdaus dan Diki yang telah banyak membantu dalam bentuk motivasi dan doa. Bahagianya bersama kalian menjadi pemicu untuk selalu memberikan yang terbaik dalam penggerjaan skripsi ini.
12. Tim Laboran Biologi dan Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta (Mas Doni, mba Ethik, Mbak Anif, dan Pak Indra) yang telah banyak membantu melancarkan penelitian ini.
13. Keluarga besar Biologi 09, yang telah memberikan dukungan dalam bentuk nasihat, motivasi, maupun doanya. Thank's all dan salam -together we can-.
14. Segenap Staff Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga, serta pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis hanya bisa berdo'a semoga amal baik yang telah diberikan oleh semua pihak di atas mendapatkan pahala dan ridho Allah SWT. *Amin* Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis pada khususnya dan pembaca pada umumnya dan semoga penulisan skripsi ini mendapatkan ridho dari Allah SWT. *Aamiin ya rabbal 'alaamiin.*

Yogyakarta, 2 Juni 2014

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISIix
DAFTAR TABELxii
DAFTAR GAMBARxiii
DAFTAR LAMPIRANxiv
ABSTRAKxv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav	7
1. Klasifikasi Tanaman Sirih Merah	9
2. Manfaat Tanaman Sirih Merah	10
B. Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman	11
1. Alkaloid	12
2. Flavonoid	12
3. Tanin	13
4. Saponin	14
5. Terpenoid	14

C. Metode Ekstraksi (Maserasi)	15
D. Bakteri	17
1. Bakteri Gram Positif.....	17
2. Bakteri Gram Negatif	20
E. Fase Pertumbuhan Bakteri.....	23
F. Antibakteri	24
G. Mekanisme Kerja Antibakteri	26
H. Hipotesis	29
BAB III METODE PENELITIAN	30
A. Waktu dan Lokasi Penelitian	30
B. Alat dan Bahan Penelitian	30
C. Prosedur Penelitian	31
1. Ekstraksi Daun Sirih Merah	31
2. Pembuatan Media	33
3. Persiapan Bakteri	33
4. Penentuan Fase Pertumbuhan	34
5. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram <i>(Paper disk)</i>	35
6. Mekanisme Kerusakan Sel	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A. Hasil.....	38
1. Ekstraksi Daun Sirih Merah	38
2. Penentuan Fase Pertumbuhan Bakteri Uji	39
3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah pada Berbagai Fase Pertumbuhan Bakteri Uji	41
4. Mekanisme Penghambatan (Pengaruh Ekstrak Etil asetat Daun Sirih Merah terhadap Kerusakan Sel.....	43
B. Pembahasan	46
1. Ekstraksi Daun Sirih	46

2. Penentuan Fase Pertumbuhan Uji	50
3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah pada Berbagai Fase Pertumbuhan Bakteri Uji	51
4. Mekanisme enghambatan (Pengaruh Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Merah terhadap Kerusakan Sel.....	56
BAB V PENUTUP	59
A. Kesimpulan	59
B. Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	68

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Jenis pelarut organik dan sifat fisiknya.....	16
Tabel 2. Perbedaan struktur dan dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif	21
Tabel 3. Hasil ekstraksi daun sirih merah (<i>Piper crocatum</i>) dengan pelarut etil setat dan etanol.....	39
Tabel 4. Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14745 dan <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	39
Tabel 5. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah terhadap Bakteri <i>B.cereus</i> ATCC 14745 dan <i>S.flexneri</i> ATCC 12022	41
Tabel 6. Absorbansi asam nukleat dan protein bakteri <i>B.cereus</i> ATCC 14745 dengan perlakuan ekstrak etil asetat daun sirih merah yang terukur pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.....	44
Tabel 7. Absorbansi asam nukleat dan protein bakteri <i>S.flexneri</i> ATCC 12022 dengan perlakuan ekstrak etil asetat daun sirih merah yang terukur pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.....	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman sirih merah	9
Gambar 2. Struktur alkaloid	12
Gambar 3. Struktur flavonoid	13
Gambar 4. Struktur tanin	14
Gambar 5. Struktur saponin	14
Gambar 6. Sel Bakteri <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14745	19
Gambar 7. Sel Bakteri <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022.....	22
Gambar 8. Ekstrak daun sirih merah	38
Gambar 9. Kurva pertumbuhan <i>B.cereus</i> ATCC 14745 dan <i>S.flexneri</i> ATCC 12022.....	40
Gambar 10. Histogram uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah terhadap fase pertumbuhan bakteri <i>B.cereus</i> ATCC 14745	42
Gambar 11. Histogram uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih Merah terhadap fase pertumbuhan bakteri <i>S.flexneri</i> ATCCC 12022 ..	42
Gambar 12. Histogram absorbansi asam nukleat dan protein bakteri <i>B.cereus</i> ATCC 14745 dengan perlakuan ekstrak etil asetat daun sirih merah yang terukur pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm	44
Gambar 13. Histogram absorbansi asam nukleat dan protein bakter <i>S.flexneri</i> ATCC 12022 dengan perlakuan ekstrak etil asetat daun sirih merah yang terukur pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm	45

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Diagram alir pembuatan ekstrak	68
Lampiran 2. Perhitungan rendemen ekstrak.....	69
Lampiran 3. Perhitungan konsentrasi ekstrak	69
Lampiran 4 Perhitungan koloni bakteri.....	69
Lampiran 5. Diagram alir uji aktivitas antibakteri	70
Lampiran 6. Hasil uji aktivitas antibakteri	70
Lampiran 7. Perhitungan diameter zona hambat.....	74
Lampiran 8. Diagram alir uji kebocoran sel.....	75
Lampiran 9. Gambar alat dan bahan	75

EFEK EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum* Ruiz & Pav) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Bacillus cereus* ATCC 14745 dan *Shigella flexneri* ATCC
12022 SERTA MEKANISME PENGHAMBATANNYA

Restuningtias Dwi Prahasitiwi
09640019

ABSTRAK

Tanaman sirih merah mengandung metabolit sekunder yang berupa alkaloid, flavonoid, polifenol, tannin, minyak atsiri, saponin, eugenol, dan fenil propada (Amalia dan Fitriai, 2002). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah dengan pelarut etil asetat dan etanol pada berbagai fase pertumbuhan dan mengetahui pengaruh ekstrak daun sirih merah terhadap kerusakan sel bakteri *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat dan etanol. Penentuan fase pertumbuhan dilakukan pada jam ke-0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 25 dengan menggunakan metode *pour plate*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan konsentrasi ekstrak 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3%; 1,5% dan 0,5% terhadap fase-fase pertumbuhan bakteri uji. Mekanisme penghambatannya yang dilihat adalah kebocoran asam nukleat dan protein dengan menggunakan spektrofotometri UV. Fase adaptasi ditetapkan pada jam ke-1 inkubasi, fase eksponensial pada jam ke-8 inkubasi, sedangkan fase stasioner pada jam ke-16 inkubasi. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah tidak mampu menghambat kedua bakteri uji, sedangkan ekstrak etil asetat daun sirih merah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022. Hambatan terbesar pada kedua bakteri ditunjukkan pada konsentrasi 6,25%. Konsentrasi 1,5% ekstrak etil asetat daun sirih merah masih menghambat bakteri *S.flexneri* ATCC 12022 ketika fase eksponensial. Hasil uji kebocoran sel dan protein menunjukkan bahwa telah terjadi kebocoran asam nukleat dan protein pada bakteri *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022 yang diberikan ekstrak etil asetat daun sirih merah. Peningkatan kebocoran asam nukleat dan protein selaras dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang diberikan.

Kata kunci: *Bacillus cereus* ATCC 14745, *Piper crocatum* Ruiz & Pav, *Shigella flexneri* ATCC 12022.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri *Bacillus cereus* dan bakteri dari genus *Shigella* adalah bakteri patogen yang seringkali mencemari bahan pangan dan menyebabkan gangguan saluran pencernaan (gastrointestinal). *B.cereus* mampu memproduksi eksotoksin dan mampu menyebabkan penyakit diare. Menurut Buckle *et al* (2010), *B.cereus* merupakan genus *Bacillus* yang lebih sering mengkontaminasi makanan, terutama mengkontaminasi makanan yang mengandung bahan dasar nasi. Adapun bakteri genus *Shigella* mampu memproduksi enterotoksin berupa toksin *Shiga*. *Shigella flexneri* merupakan anggota genus *Shigella* yang memiliki presentase tinggi dalam menyebabkan disentri (Zein, 2004), yaitu sebesar 25% (Supardi dan Sukamto, 1999). Disentri terjadi karena nekrosis pada sel-sel mukosa saluran usus. Disentri diindikasikan dengan munculnya diare. Secara etiologi, diare yang disebabkan adanya infeksi pada usus disebut *enteric infection*. Diare ini masuk dalam kategori diare akut dengan mekanisme *inflammatory*, yakni diare yang disertai lendir dan darah (*bloody diarrhea*) (Zein, 2004).

Secara umum, berbagai infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati dengan menggunakan antibiotik (Ashutoh, 2008). Akan tetapi yang menjadi permasalahan pokok dari penggunaan antibiotik adalah terjadinya resistensi beberapa bakteri terhadap antibiotik yang digunakan (Lohner dan Austria, 2001). Menurut

Todar (2009), genus *Shigella* mampu mengembangkan resistensi terhadap agen antimikroba karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat, sehingga mengakibatkan antibiotik yang ada menjadi tidak efektif lagi untuk mengobati penyakit infeksi. Oleh sebab itu, perlu adanya penemuan baru atau mengganti antibiotik yang sudah tidak efektif sebagai obat. Hal tersebut mendorong untuk ditemukannya obat pengganti yang lebih efektif, murah, aman bagi tubuh, dan tersedia dalam jumlah yang besar sehingga diharapkan resistensi antibiotik dapat diatasi.

Pengobatan menggunakan senyawa tumbuhan merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi hal tersebut. Sebenarnya, pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku untuk keperluan obat merupakan warisan nenek moyang yang cukup lama dengan cara pengolahan yang sederhana. Menurut Wilson (2004), tumbuhan memiliki senyawa-senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antibiotik sehingga eksplorasi terhadap senyawa-senyawa aktif tersebut memiliki relevansi yang besar terkait penemuan antibiotik baru untuk mengatasi terjadinya resistensi. Selain itu, diharapkan penggunaan antibiotik dari senyawa alami tumbuhan dapat lebih aman untuk tubuh dalam penggunaan jangka panjang.

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat antibakteri adalah *Piper crocatum* yang biasa dikenal dengan tanaman sirih merah. Tanaman sirih merah merupakan tanaman yang mudah untuk diperbanyak dengan stek dan tidak perlu perlakuan khusus ketika mengembang biakkannya (Indri *et al.*, 2008). Menurut Suratmo (2009), sirih merah banyak mengandung bahan antibiotik dan analgetik yang

sangat berguna untuk menyembuhkan penyakit infeksi. Namun masyarakat masih kurang memanfaatkan sirih merah dalam pengobatan dan lebih tertarik untuk menjadikannya sebagai tanaman hias dengan membudidayakan secara komersial (Indri *et al.*, 2008). Selain itu, sirih merah masih terus dikaji sebagai alternatif obat alami terhadap masalah infeksi bakteri.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki efektifitas yang baik dalam menghambat pertumbuhan *Pityrosporum ovale* dan dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif terhadap ketombe (Oktaviani, 2012). Hasil ekstrak etanol daun sirih merah dengan dosis 50 mg/kg BB menunjukkan efek antiinflamasi yang paling besar di antara dosis yang digunakan terhadap tikus putih (Fitriyani *et al.*, 2011). Penelitian oleh Hadhana (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan metanol daun sirih merah memiliki sifat antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak non polar (N-heksana) daun sirih merah tidak mampu menghambat *B. subtilis*, *S. aureus* dan *E. coli*, sehingga pada penelitian ini dipilih dua pelarut yaitu pelarut semipolar dan polar.

Dalam pencarian alternatif obat yang efektif untuk menanggulangi masalah infeksi bakteri, diperlukan adanya penentuan fase pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan pada fase eksponensial mikroba terjadi pertumbuhan sel yang sangat cepat dan teratur serta semua bahan dalam keadaan seimbang (Madigan *et al.*, 2003). Irianto (2010) menambahkan bahwa mikroba pada fase eksponensial lebih sensitif

terhadap aktivitas anibiotik dibandingkan pada fase stasioner. Selain itu, bakteri yang terus berkembang dan mampu mempertahankan hidupnya pada fase stasioner akan segera beradaptasi dengan lingkungan yang minim nutrien. Jika hal tersebut terjadi maka bakteri akan mengembangkan sifat resistensinya. Dengan demikian, diharapkan ditemukan alternatif obat masalah infeksi bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial tersebut.

Alternatif obat infeksi bakteri dapat menyebabkan terganggunya metabolisme sel bakteri yang akhirnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri atau bahkan menyebabkan kematian bakteri. Menurut penelitian Parhusip (2006), kerusakan sel diawali dengan rusaknya membran sel yang berlanjut dengan keluarnya material isi sel dan akhirnya sel mengalami kematian. Oleh karena itu alternatif obat infeksi bakteri yang ditemukan diharapkan mampu merusak membran sel bakteri.

Adanya masalah-masalah di atas seperti infeksi bakteri *B.cereus* dan *S.flexneri* yang menyebabkan gangguan gastrointestinal dan pengembangan sifat resistensi yang juga dipengaruhi fase pertumbuhan bakteri, menggugah penulis untuk mengkaji daun sirih merah yang dinilai mampu menjadi alternatif penanganan masalah infeksi bakteri tersebut. Bakteri *B.cereus* dan *S.flexneri* masing-masing sudah mewakili kelompok bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif sehingga dapat digunakan sebagai acuan penentuan spektrum aktivitas antibakteri daun sirih merah. Penelitian ini juga akan mengkaji aktivitas antibakteri pada berbagai fase pertumbuhan bakteri uji serta mekanisme penghambatannya.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah dengan pelarut etil asetat dan etanol terhadap *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022 pada berbagai fase pertumbuhan?
2. Bagaimanakah pengaruh ekstrak etil asetat dan etanol daun sirih merah terhadap mekanisme penghambatan bakteri *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah dengan pelarut etil asetat dan etanol terhadap *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022 pada berbagai fase pertumbuhan.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak etil asetat dan etanol daun sirih merah terhadap kerusakan sel bakteri *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022.

D. Manfaat Penelitian

1. Dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri daun sirih merah pada fase-fase pertumbuhan bakteri *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022 serta mekanisme kerusakan sel bakteri yang ditimbulkan akibat adanya senyawa antibakteri yang terdapat pada daun sirih merah.
2. Menjadi dasar penelitian berikutnya dalam mengembangkan bahan alam, khususnya sirih merah sebagai alternatif antibakteri.

3. Masyarakat semakin termotivasi untuk membudayakan tanaman sirih merah yang nantinya juga dapat menambah nilai ekonomi.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etil asetat daun sirih merah pada konsentrasi 6,25% memberikan hambatan tertinggi pada setiap fase pertumbuhan bakteri *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022 dan memberikan sensitifitas lebih tinggi selama fase eksponensial. Ekstrak etanol daun sirih merah tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *B.cereus* ATCC 14745 dan *S.flexneri* ATCC 12022.
2. Ekstrak etil asetat daun sirih merah lebih mampu merusak membran sel *S.flexneri* ATCC 12022 dibandingkan *B.cereus* ATCC 14745 dengan adanya tingkat kebocoran asam nukleat dan protein yang lebih besar.

B. Saran

Perlu dilakukan uji ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri uji yang lain. Selain itu perlu dilakukan adanya uji lanjutan analisis mekanisme penghambatan aktivitas antibakteri yang lain, seperti pengamatan morfologi SEM, uji kebocoran ion-ion, dan uji hidrofobisitas sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, MR dan Moss MO. 1995. *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry.
- Ahmad, I., Aqil, F., dan Owais, M. 2006. *Modern Phytomedicine: Turning Medical Plants into Drugs*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim.
- Amalia, Erna, dan Fitriai Normasari, SP. 2002. Tata Cara Praktis Budidaya Tanaman Obat dan Pembuatan Obat Tradisional (Sebuah Persembahan dari PJ Sekar Kedhaton). PJ Sekar Kedhaton: Yogyakarta.
- Alfarabi, M. 2008. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah. *Skripsi Institut Pertanian Bogor*, Bogor.
- Ansel, IIC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. UI Press: Jakarta.
- Ashutoh, K. 2008. *Pharmaceutical Microbiology*. New Age International (P) Ltd: New Dehli.
- Atlas, R. M., dan Richard, B. 1987. *Microbial Ecology : Fundamentals and Applications* (Second Edition). The Benjamin Cummings Publishing Company: California.
- Aziz, AA. 2009. Penentuan Kadar Air dan Minyak Sawit Mentah (CPO) Pada Tangki Penyimpanandi Pabrik Kelapa Sawit PT. PN 1V Kebun Adolina. *Karya Ilmiah D3*. Universitas Sumatera Utara. Padang.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus elastica Nois ex Blume terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi Fakultas Farmasi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Bernasconi, G. 1995. *Teknologi Kimia*. Jilid 2, Edisi pertama. PT Pradaya Paramita: Jakarta.
- Branen, A. L. dan Davidson PM. 1993. *Antimicrobialin Food Marcel Dekker*: New York.
- Breed, S., E.G.D. Murray.,R.M. Smith. 1975. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7th Edition. Balliere, Tyndall&Cox Ltd: London.
- Brock, TD dan Madigan MT. 2003. *Biology of Microorganisms*. Sixth edition. Prentice Hall International: Mexico.

- Browning, BL. 1996. *Methods of Wood Chemistry*. Vol I, II. Interscience Publishers. New York.
- Buckle, KA., Edwards, RA., Fleet, GH., Wootton, M. 2010. *Ilmu Pangan*, Terjemahan Purnomo AH. UI Press: Jakarta.
- Bunduki MMC, Flanders KJ, Donelly CW. 1995. Metabolic and structural sites of damage in heat and sanitizer-inured population of Listeria monocytogenes. *J.Food Protect.* 58: 410-415.
- Chia, ML., Preston, JK dan Wei, CL. 2000. Antibacterial Mechanism of Allyl Isothiocyanate. *J.of Food Protection* 63 (6): 727-734.
- Cowan, MM. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *J.Clinical Microbiology Reviews*; 12(4): 564–582.
- Damayanti, R., Mulyanto dan Mulyono. 2006. *Khasiat dan maanfaat daun sirih: Obat mujarab dari masa ke masa*. AgroMedia Pustaka: Jakarta.
- Davis, WW. dan Stout, TR. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology* 22: 659-665.
- Dewi, FK. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi Jurusan Biologi FMIPA*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Dzen, SM. 2003. *Bakteriologi Medik*. Edisi 1. Bayumedia Publishing: Malang. p 187-197 & 223-234.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan izi Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., Nuri. 2011. Uji Antiflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Ruiz & Pav) Pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. Fakultas Farmasi Universitas Jember, Jember.
- Frazier, F dan Westhoff W. 1988. *Food Microbiology*. Tata Mc Graw Hills Pub. Co Limited: NewYork.
- Ganiswara, G., Setiabudi, R., Suyatna, dan Nafrialdi. 1995. *Farmakologi dan Terapi*, edisi 4. UI Press: Jakarta.

- Graf, AB. 1992. *Tropica. Color Cyclopedia of Exotic Plants and Trees*. Fourth Edition. Roehrs Company-Publiher East Rutherford NJ: U.S.A 07073. 822.
- Granum, P. E. 1994. *Bacillus cereus* and its toxins. Di dalam Lund, B. M., baird Parker, T. C, dan G. W. Gould (eds.). 2000. *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Volume II. Aspen Publisher Inc., Maryland.
- Greenwood , Slock RCB, Reutherer JF. 1992. *Medical Microbiology*. 14th Edition. London: Langman Group Ltd. P: 305-315.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri*. UI Press: Jakarta.
- Handayani, S. 2010. Artikel Kimia: *Analisa dan Khasiat daun salam*. Padang
- Hadhana,F. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana, Etilasetat, dan Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi Program Studi Kimia*. UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan* Ed ke-3. Bandung (ID): ITB.
- Harborne, JB. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Menganalisis Tumbuhan* Ed ke-2. ITB: Bandung.
- Hagerman, AE. 2002. *Tanin Handbook. Department of chemistry and Biochemistry*. Oxford, Miami University. USA
- Heat, HB dan Reineccius, G. 1987. *Flavour Chemistry and Technology*. Von Nostrand Reinhold co. New York.
- Herbert RB. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Bambang Srigandono, penerjemah. Edisi kedua. Semarang: IKIP Semarang Press. Terjemahan dari: *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*.
- Heyne K., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid 1. (Terjemahan). Badan Libang Kehutanan: Jakarta.
- Husein, HB. 1998. *Teknik Pemisahan Kimia dan Fisika*. Ganeca: Jakarta.
- Indri, WW., Anthoni, MSS dan Setyorini, W. 2008. *Sirih Merah*. Balai Kajian Teknologi Pertanian Yogyakarta: Yogyakarta.

- Inggit, PA dan Esti, M. 2011. Karakteristik Morfologi Daun Sirih Merah: *Piper crocatum* Ruiz & Pav dan *Piper porphyrophyllum* N.E.Br. Koleksi Kebun Raya Bogor. Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor. *Penelitian Hayati Edisis Khusus*: 7A (83-85).
- Irianto, K. 2010. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme* Jilid 1. CV. Yrama Widya: Bandung.
- Jawetz, E., Adelberg, EA and Melniek, J. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran* Terj. Enugroho dan Maulana RF. Edisi ke-20. Jakarta: EGC.
- Juliantina, FR. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *J. kedokteran Kesehatan Indonesia*.
- Kanazawa, AI. 1995. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extract*. Chapman & Hall. London.
- Kardinan dan Taryono. 2003. *Tumbuhan Obat Lembaga Biologi Nasional LIPI*. Balai Pustaka: Jakarta.
- Karsinah, LHM., Suharto dan Mardiastuti, HW. 1993. *Batang Negatif Gram dalam buku Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi. Binarupa Aksara: Jakarta.
- Khanbabae, K. dan Ree, TV. 2001. *Tannins: Classification and Definition*. Nat Prod Rep, 18: 641-649
- Kim, JM., Marshal, MR., Wei, CI. 1995. Antibacterial activity of some essential componants against five food borne pathogens. *J. Agric. And Food Chem.* 43:2839-2845.
- Lay, BW dan Sugyo, H. 1992. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja GrasindoPersada: Jakarta.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimp. *Skripsi Fakultas MIPA*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Lin, CM., James, FP, Cheng, IW. 2000. Antibacterial mechanism of ally lisothiocyanate. *J. of Food.Protect.* 61:727-734.
- Lohner, K., dan Austria, G. 2001. *Development of Novel Antimicrobial Agent: Emerging Strategies*. England: Horizon Scientific Press.

- Lucchini, S., Liu, H., Jin, Q., Hinton, JC., and Yu, J. 2005. Transcriptional adaptation of *Shigella flexneri* during infection of macrophages and epithelial cells: insights into the strategies of a cytosolic bacterial pathogen. *Infect Immun* 73: 88–102.
- Madigan, MT., Martinko, JM., Parker, J. 2003. *Brock Biology of Microorganism*. Tenth Edition. Southern Illinois University Carbondale.
- Manoi, F. 2007. Sirih merah sebagai tanaman multi fungsi. Warta Puslitbangbun: 13(2).
- Makkar, H.P dan R. Singh, R. 2002. The Potential of Mulberry Foliage as a feed Suplement. 139-154.
- Maleki, S., Seyyednejad, SM., Damabi, MN., dan Motamedi, H. 2008. Antibacterial activity of the fruits of Irianian *Torilis leptophylla* againts some clinical pathogens. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11(9): 1286-1289.
- Markham, KR. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB: Bandung
- Middleton, E., Kaswandi, C., Theoharides, TC. 2000. The Effects of Plants Flavonoids on mammalian Cells: Implications For Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *The Americans Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, Pharmacol Rev* 52:673-751.
- Miksusanti, Jennie, BS(.), Panco, B., dan Trimulyadi, G. 2008. Kerusakan Dinding Sel *Escherichia coli* K1.1 oleh Minyak Atsiri Temu Kunci (*Kaempferia pandurata*), Berita Biologi 9(1):1-8.
- Mufid, K. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi*, Malang.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*, Edisi 5. Penerbit Institut Teknologi Bandung: Bandung. hlm. 649.
- Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. 1997. Farmakologi Ulasan Bergambar. Terjemahan Hartanto. Widya Medika: Jakarta.
- Naim, R. 2004. Senyawa Antimikroba dari Tumbuhan. FKH dan Sekolah Pascasarjana Ipb. Diakses tanggal 10 Februari 2014.

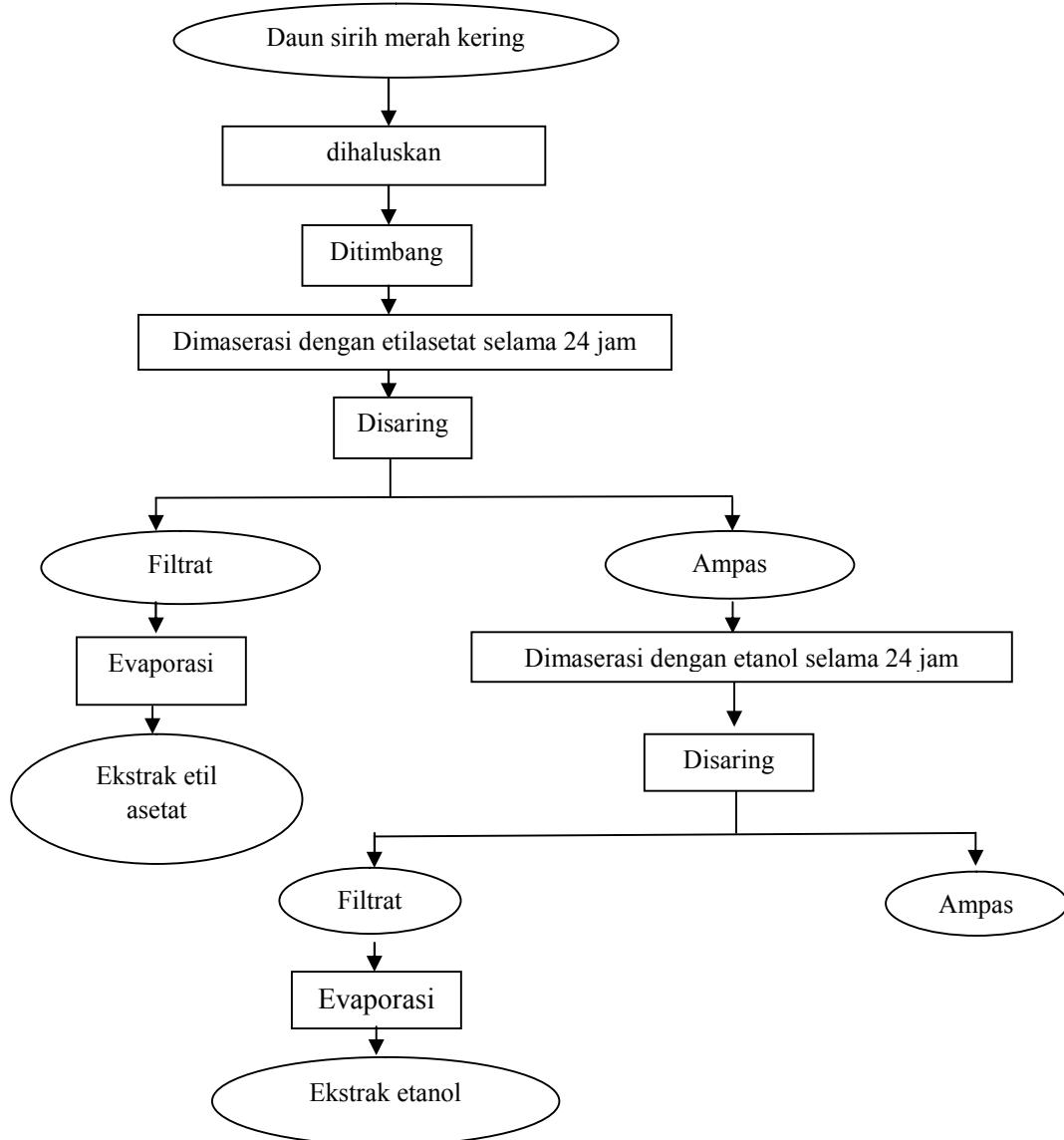
- Naufalin, R. 2005. Kajian sifat antimikroba ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai mikroba pathogen dan perusak pangan. *Disertasi Sekolah Pascasarjana*. Institut Pertanian Bogor.
- Ni'mah, A. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi-fraksi Hasil Pemisahan Ekstrak Etilasetat dan Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*. *Skripsi Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta*.
- Nychas dan Tassou. 2000. Tradisional preservatives-oiland spices. *Encyclopedia of food microbiology volume 1*.Academy Press London.
- Oktaviani, D. 2012. Uji Banding Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dengan Zinc Pyrithione 1% Terhadap Pertumbuhan *Pytyosporum ovale* pada penderita berketombe. Skripsi Fakultas Kedikteran Umum Universitas Dipenogoro, Semarang.
- Parhusip, A. 2006. Kajian mekanisme antibakteri ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap bakteri pathogen pangan. *Disertasi Sekolah Pascasarjana*. Intitut Pertanian Bogor.
- Pelczar, MJ dan Reid, RD. 1979. *Microbiology*. Mc Graw Hill Book Co: New York.
- Pelczar MJ, dan Chan, ECS. 2010. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Volume ke-1,2. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Elemen of Microbiology*.
- Pieta, P.G. 2000. *Flavonoids as Anti-oxidants*. J. Nat. Prod. 63, 1043-1046.
- Plewig G, Jansen T. 2008. *Seborrhoic dermatitis*. In: Freedberg IM, Elsen AZ, Wolf K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, editors. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine* 6th Edition. McGraw-Hill: New York.
- Pratiwi, I. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha indica* terhadap Bakteri *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi Jurusan Biologi FMIPA*. UNS. Surakarta.
- Priyanto. 2008. *Farmakoterapi dan Terminologi Medis*. Depok: Leksonfi. Hlm. 157
- Rismita, S., Ruspadi dan Siti, RA. 2010. *An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in the Bogor Botanic Gardens*. Center for Plant Conservation Bogor Botanic Gardens. Indonesian Institute of Sciences: Republic of Indonesia. 220.

- Robinson. 1995. Phyto-chemistry in plants. Di dalam: Naidu AS. *Natural Food Mycrobial System*. CRC Press: USA.
- Safitri, M., dan Fahma, F. Potency of *Piper crocatum* decoction as an antihyperglycemia in rat strain Sprague Dawley. *Hayati J Biosci*. 2005;15(1):45
- Salim A. 2006. *Potensi rebusan sirih merah (Piper crocatum) sebagai senyawa antihiperglikemia pada tikus putih galur Sprague-Dawley*. Skripsi Institut Pertanian Bogor.
- Sampurno. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. 3-4, 10-12, 13-19.
- Sastrohamidjojo. 1996. Kimia Minyak Atsiri. Penerbit Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Schlegel, HS dan Schmidt K. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Ed. Ke 6. Terjemahan Tedjo Baskoro. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Steenis, CGGJ van (ed.). 1972. *Flora Malesiana. Series 1: Spermatophyta*. Vol.5. Groningen: Wolters-Noordhoff Publishing.
- Stratford, M. 2000. Traditional preservatives-organic acids. Didalam: Robinson RK, Batt CA. Patel PD, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Volume 1. Academic Press: London.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta. Liberty: Yogyakarta
- Sudewo, B. 2005. *Basmi penyakit dengan sirih merah*. PT AgromediaPustaka: Jakarta.
- Supardi, I dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Yayasan Adikarya IKAPI: Bandung.
- Suratmo. 2009. Potensi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Antioksidan. Skripsi Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya. Malang.
- Tan, H dan Rahardjo, K. 2002. *Obat-obat Penting*, Edisi 5. Elek Media Komputindo: Jakarta. Hlm. 228-240.

- Tina, R. 2007. Uji Aktivitas Hasil Penyarian Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Beberapa Penyebab Infeksi Kulit. Skripsi Fakultas Farmasi. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Todar, K. 2009. *Online Text Book of Bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Tortora, GJ. Funke, BR., Case, CL. 2001. *Microbiology an Introduction* 7th edition. Addison Wesley Longman: United States America.
- Trijani, S. 2012. Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga *Hibiscus sabdariffa* L. (Rosella) Terhadap *Streptococcus sanguinis* Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herbal Tersandar. Fakultas Kedokteran Gigi.
- Ultee, A., Slump, RA., Steging, G dan Smid EJ. 2000. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *J Food Prot* Vol 63 No. 5: 620-624.
- Verpoorte, R. and A.W. Alfermann. 2000. Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Springer. 1-3pp.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Terjemahan oleh S. Noerono. UGM Press: Yogyakarta.
- Volk and Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Terjemahan Soenarto Adisoemarno. Erlangga: Surabaya.
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah Malang Press: Malang.
- Watson, DG. 2005. *Analisis Farmasi*. Penerbit Buku Kedokteran: Jakarta
- Wilson, G. 2004. *Textbook of organic medical and pharmaceutical chemistry*, edisi kesebelas. Lippincott Williams & Wilkins: New York.
- Wink, M. 2008. Ecological Roles of Alkaloids, dalam Wink, M., *Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology*, Wiley: Jerman.
- Zein, U., 2004. *Diare Akut Infeksius Pada Dewasa*. Universitas Sumatera Utara: Medan.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram alir pembuatan ekstrak



Lampiran 2. Perhitungan rendemen ekstrak

$$R (\%) = \frac{A}{B} \times 100 \%$$

Keterangan: R= Rendeman (%)

A= Berat ekstrak kasar (gram)

B= Berat awal bahan (gram)

$$1. \quad R. \text{ ekstrak etil asetat} = \frac{3,39 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 3,39 \%$$

$$2. \quad R. \text{ ekstrak etanol} = \frac{6,52 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 6,52 \%$$

Lampiran 3. Perhitungan konsentrasi ekstrak

$$\text{Konsentrasi (\%)} = \frac{\text{ekstrak (g)}}{\text{pelarut (ml)}}$$

$$1. \quad 50\% = \frac{50 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{5 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = \frac{0,5 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

$$2. \quad 25\% = \frac{25 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{2,5 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = \frac{0,25 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

$$3. \quad 12,5\% = \frac{12,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{1,25 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = \frac{0,125 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

$$4. \quad 6,25\% = \frac{6,25 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{0,625 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = \frac{0,0625 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

$$5. \quad 3\% = \frac{3 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{0,3 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = \frac{0,03 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

$$6. \quad 1,5\% = \frac{1,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{0,15 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = \frac{0,015 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

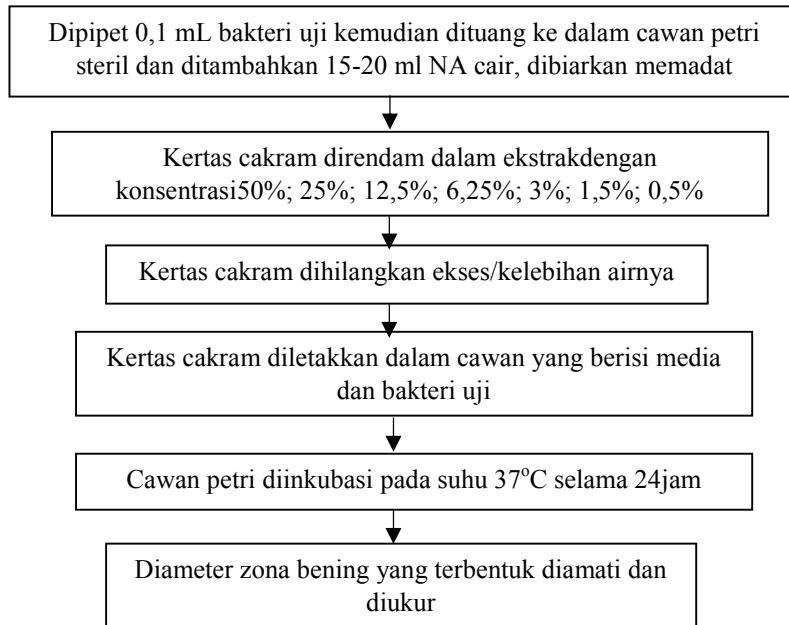
$$7. \quad 0,5\% = \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{0,05 \text{ g}}{10 \text{ ml}} = \frac{0,005 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

Lampiran 4. Perhitungan koloni bakteri

Jumlah total mikroba (CFU/mL): jumlah koloni x faktor pengenceran

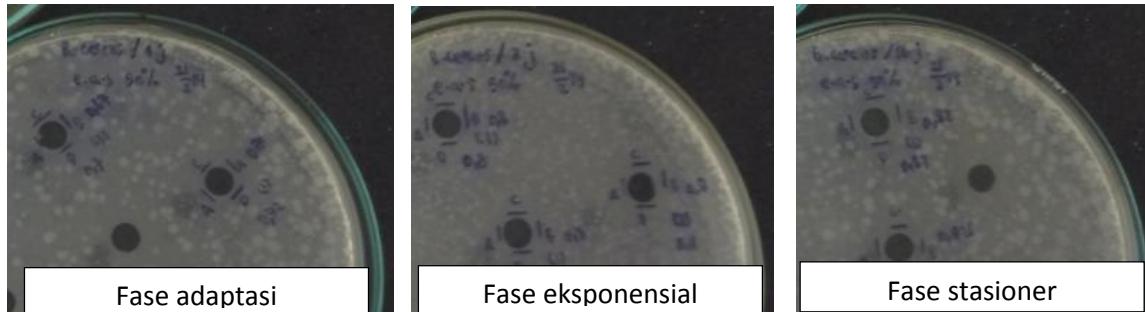
*Faktor pengenceran: 1
Tingkat pengencer

Lampiran 5. Diagram alir uji aktivitas antibakteri



Lampiran 6. Hasil uji aktivitas antibakteri

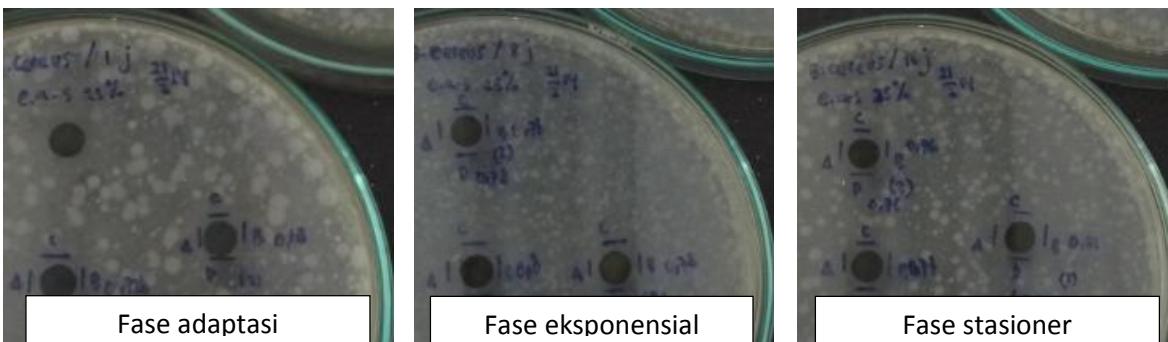
- Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah konsentrasi 50% terhadap bakteri *B.cereus*



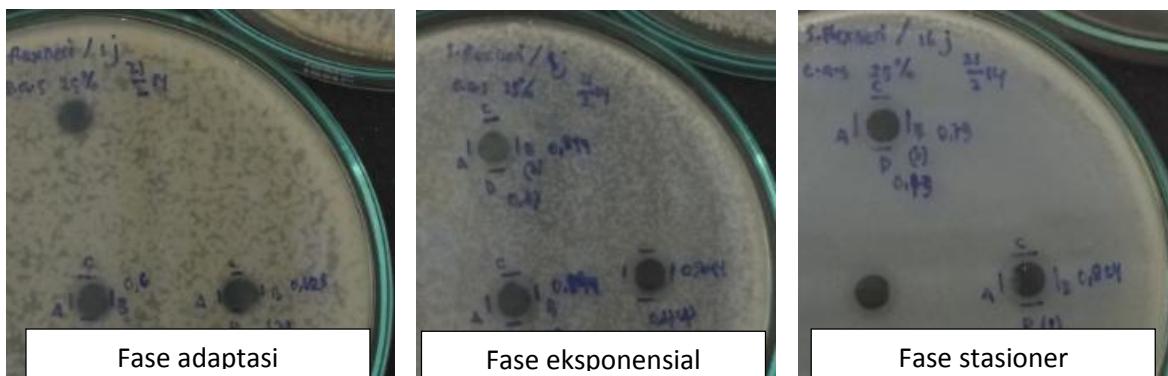
- Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah konsentrasi 50% terhadap bakteri *S.flexneri*



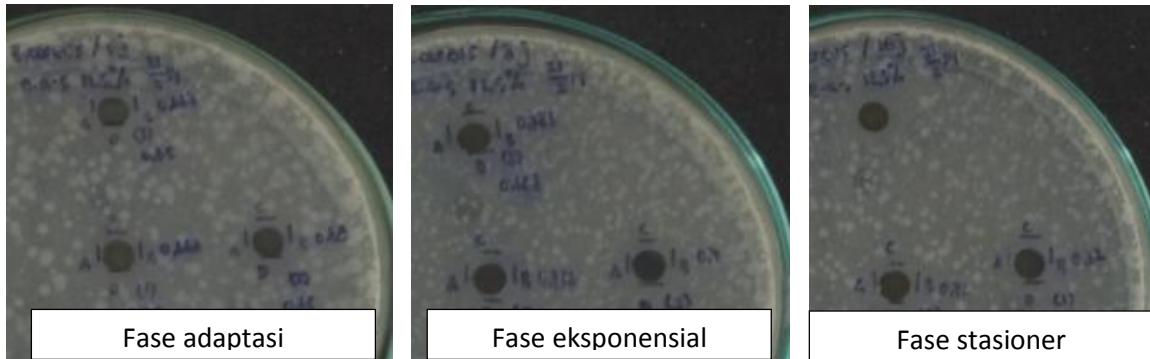
- Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah konsentrasi 25% terhadap bakteri *B.cereus*



- Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah konsentrasi 25% terhadap bakteri *S.flexneri*



- Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah konsentrasi 12,5% terhadap bakteri *B.cereus*



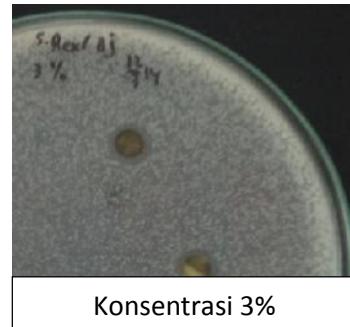
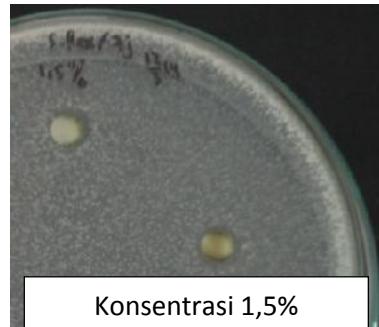
- Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah konsentrasi 12,5% terhadap bakteri *S.flexneri*



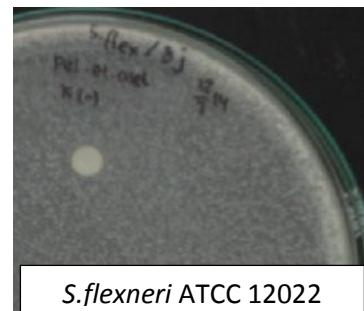
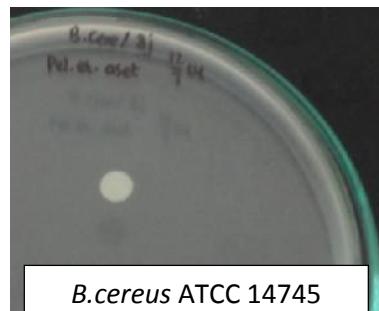
- Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah konsentrasi 6,25% terhadap bakteri *S.flexneri*



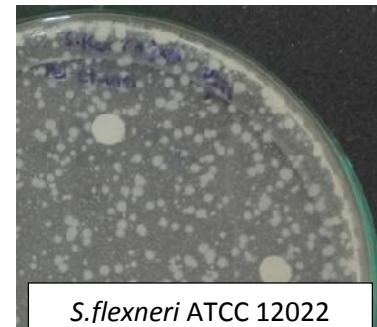
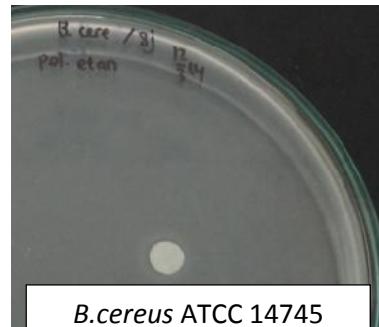
- Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih merah terhadap bakteri *S.flexneri* pada fase eksponensial



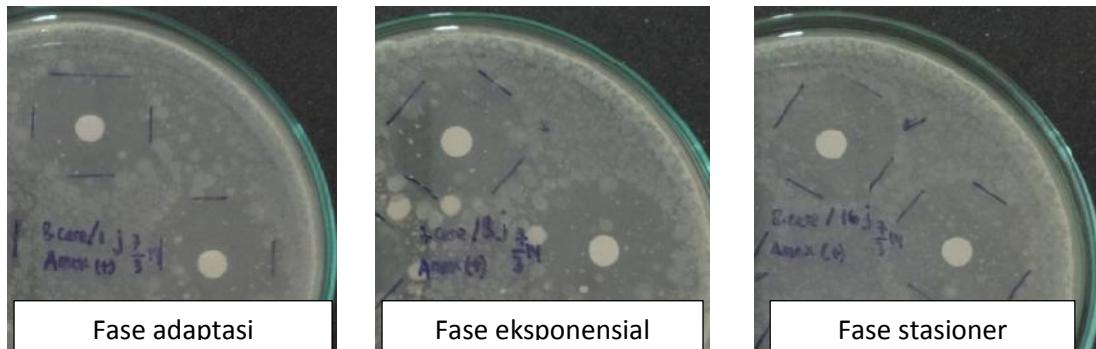
- Aktivitas antibakteri pelarut etilasetat terhadap bakteri *B.cereus*



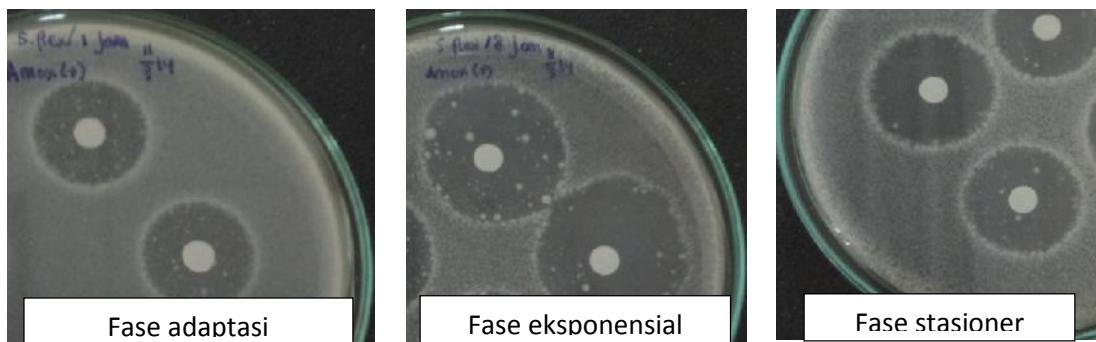
- Aktivitas antibakteri pelarut etanol terhadap bakteri *B.cereus*



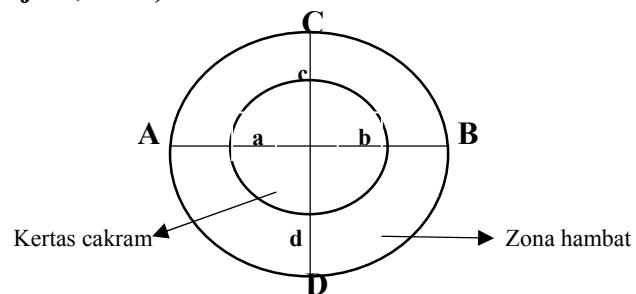
- Aktivitas antibakteri antibiotik (*Amoxcillin*) terhadap bakteri *B.cereus*



- Aktivitas antibakteri antibiotik (*Amoxcillin*) terhadap bakteri *S.flexneri*



Lampiran 7. Perhitungan diameter zona hambat (Beker et al., 1991 dalam Trijani, 2012)



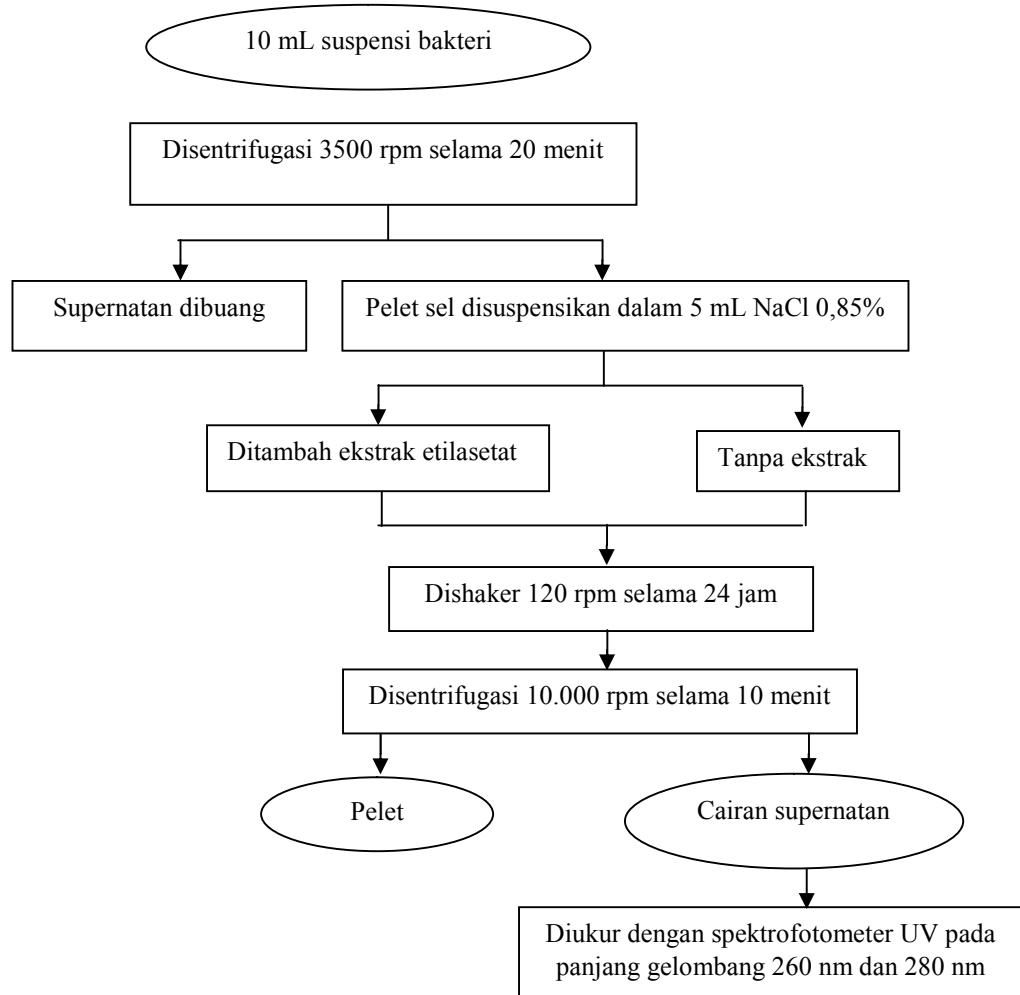
Pengukuran jari-jari: Pengukuran I : $(AB-ab) : 2$

Pengukuran II : $(CD-cd) : 2$

$$\text{Zona Hambat} : \frac{\text{Pengukuran I} + \text{Pengukuran II}}{2}$$

Pengukuran diameter: Pengukuran jari-jari x 2

Lampiran 8. Diagram alir uji kebocoran sel



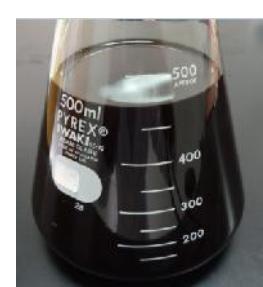
Lampiran 9.Gambar alat dan bahan



Sirih merah kering



Serbusk sirih merah



Sirih merah hasil maserasi



Evaporator



B.cereus ATCC 14745



S.flexneri ATCC 12022