

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI KOMBINASI
EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*)
DAN DAUN KELOR (*Moringa oleifera L.*)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***



Oleh :

DESI LISTYORINI

NIM : 201605009

**PROGRAM STUDI DIPLOMA 3 FARMASI
STIKES BHAKTI HUSADA MULIA MADIUN**

2019

KARYA TULIS ILMIAH

UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

Diajukan untuk memenuhi
Salah satu persyaratan dalam mencapai gelar
Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)



Oleh :
DESI LISTYORINI
NIM : 201605009

PROGRAM STUDI DIPLOMA 3 FARMASI
STIKES BHAKTI HUSADA MULIA MADIUN

2019

PERSETUJUAN

**Karya Tulis Ilmiah Ini Telah Disetujui Oleh Pembimbing Dan Telah
Dinyatakan Layak Mengikuti Ujian Sidang**

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI KOMBINASI
EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*)
DAN DAUN KELOR (*Moringa oleifera L.*)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

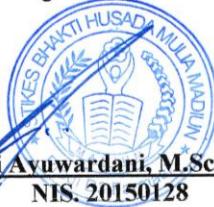
Menyetujui,
Pembimbing II


Susanti Erikania, M.Farm., Apt
NIS. 20150116

Menyetujui,
Pembimbing I


Vevi Maritha, M.Farm., Apt
NIS. 20150129

Mengetahui,
Ketua Program Studi D3 Farmasi


Novi Ayuwardani, M.Sc., Apt
NIS. 20150128

PENGESAHAN

Telah dipertahanka di depan Dewan Penguji Tugas Akhir (KTI) Program Studi Diploma 3 Farmasi STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun dan dinyatakan telah memenuhi sebagian syarat memperoleh gelar Diploma 3 Farmasi (A.Md.Farm)

Pada Tanggal 23 Agustus 2019

Dewan Penguji

1. Yetti Hariningsih, M.Farm., Apt

Dewan Penguji

2. Vevi Maritha, M.Farm., Apt

Penguji 1

3. Susanti Erikania, M.Farm., Apt

Penguji 2

Mengesahkan

STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun
Ketua,



Zaenal Abidin, S.KM., M.Kes (Epid)

NIS.20160130

PERSEMBAHAN

Oleh karena itu, pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada :

1. Orang Tua dan keluarga atas segala doa dan dukungan serta nasehat-nasehatnya.
2. Bapak Zaenal Abidin, S.KM.,M.Kes (Epid) selaku Ketua STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun, yang telah memberikan kesempatan untuk menyusun Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Ibu Vevi Maritha, M. Farm., Apt. selaku dosen pembimbing 1 penulisan Karya Tulis Ilmiah ini yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan arahan, petunjuk, serta bimbingan bagi penulis selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ibu Susanti Erikania, M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing 2 penulisan Karya Tulis Ilmiah ini yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan arahan, petunjuk, serta bimbingan bagi penulis selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Ibu Yetti Hariningsih, M.Farm.,Apt selaku dosen penguji saat pengujian proposal serta sidang KTI.
6. Teman-teman farmasi angkatan 2016 yang setia menemani dan mendengarkan keluh kesahku.
7. Roby Kusuma D yang selalu setia menemani dan memberi semangat.
8. Adik tingkat farmasi angkatan 2017 yang telah membantu dan memberi semangat.

HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Desi Listyorini

NIM : 201605009

Dengan ini menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan dalam memperoleh gelar (ahli madya) disuatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan baik yang sudah maupun belum atau tidak dipublikasikan, sumbernya dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka.

Madiun, 23 Agustus 2019

Desi Listyorini

NIM. 201605009

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Desi Listyorini
Jenis Kelamin : Perempuan
Tempat dan Tanggal lahir : Magetan, 04 Desember 1994
Agama : Kristen
Alamat : JL Panglima Sudirman Gg Pemuda No. 16
Magetan
Email : Desilistyorini@gmail.com
Riwayat Pendidikan :
1) SMK Analis Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri
2) SMPK Yohanes Gabriel Pare
3) SDK Santa Maria Pare
4) TK Santa Maria Magetan
Riwayat Pekerjaan : 2014-2015 : Proclinic Surabaya

**UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*)
DAN DAUN KELOR (*Moringa oleifera L.*)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*.**

Desi Listyorini

Program Studi Diploma III Farmasi, STIKes Bhakti Husada Mulia Madiun
Email: Desilistyorini@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi Saluran Kemih adalah infeksi akibat berkembang biaknya mikroorganisme di dalam saluran kemih, yang dalam keadaan normal air kemih tidak mengandung bakteri. Penyakit ini dapat diobati dengan tumbuhan daun sirih merah dan daun kelor.

Tumbuhan tersebut adalah daun sirih merah dan daun kelor dimana tumbuhan ini mengandung flavonoid. Senyawa flavonoid dalam kedua tumbuhan tersebut dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* penyebab infeksi saluran kemih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat antibakteri dan mengetahui perbandingan ekstrak konsentrasi kombinasi yang efektif terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium untuk melihat aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun kelor pada berbagai konsentrasi yaitu 20%:80%, 40%:60%, 50%:50%, 60%:40%, 80%:20%. Pembuatan ekstrak baik daun sirih merah dan daun kelor menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Uji aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi dan cakram antibiotik ciprofloxacin 1,96 μ g/disk terhadap *Escherichia coli* selama 24 jam yang diinkubasi pada suhu 37°C dan diukur daya hambat (mm). Daya hambat yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisa data menggunakan metode statistik *One Way Anova*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun kelor dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, dengan ditunjukkan adanya daya hambat. Pemberian kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun kelor pada konsentrasi 80%:20% lebih optimal dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan nilai daya hambat sebesar 10,15 mm yang lebih mendekati nilai daya hambat kontrol positif (15,08mm) dibandingkan dengan konsentrasi yang lain ($p = 0,000$).

Kata Kunci : Daun Sirih Merah, Daun Kelor, Daya Hambat

ANTIBACTERIAL TEST OF COMBINATION OF RED SIRIH LEAF EXTRACT

(Piper crocatum) AND KELOR LEAVES (Moringa oleifera L.)

TOWARD BACTERIA *Escherichia coli*.

Desi Listyorini

Diploma III Pharmacy Study Program, STIKes Bhakti Husada Mulia Madiun

Email: Desilistyorini@gmail.com

ABSTRACT

Urinary Tract Infections are infections caused by the proliferation of microorganisms in the urinary tract, which in normal circumstances the urine does not contain bacteria. This disease can be treated with red betel leaves and Moringa leaves.

These plants are red betel leaves and moringa leaves where these plants contain flavonoids. Flavonoid compounds in both plants can be used to inhibit the growth of *Escherichia coli* causing urinary tract infections. This study aims to determine the antibacterial inhibitory properties and determine the ratio of extract concentration combination that is effective against the growth of *Escherichia coli*.

This research is an experimental laboratory study to see the antibacterial activity of a combination of red betel leaf extract and Moringa leaves at various concentrations, namely 20%: 80%, 40%: 60%, 50%: 50%. 60%: 40%, 80%: 20% The extraction of both red betel leaf and moringa leaf using maceration method with 96% ethanol solvent. Antibacterial activity test of the extract combination was carried out *in vitro* using the diffusion method and the 1.96 µg / disk ciprofloxacin antibiotic disk against *Escherichia coli* for 24 hours incubated at 37°C and measured inhibition (mm). The inhibitory properties obtained were then analyzed using the *One Way Anova* statistical method.

The results showed that the combination of red betel leaf extract and Moringa leaves could inhibit the growth of *Escherichia coli*. with indicated inhibition. Giving a combination of red betel leaf extract and Moringa leaves at a concentration of 80%: 20% is more optimal in inhibiting the growth of *Escherichia coli* with a inhibitory value of 10.15 mm which is closer to the value of positive control inhibition (15.08 mm) compared to concentrations that are others ($p = 0,000$).

Keywords: Red Betel Leaf, Moringa Leaf, Inhibitory Power

DAFTAR ISI

Halaman Sampul dalam	i
Lembar Persetujuan.....	ii
Lembar Pengesahan	iii
Persembahan	iv
Halaman Pernyataan.....	v
Daftar Riwayat Hidup	vi
Abstrak	vii
<i>Abstract</i>	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran	xiii
Kata Pengantar	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUN PUSTAKA	6
2.1 Daun Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>).....	6
2.2 Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.).....	10
2.3 Ekstrak dengan Maserasi.....	12
2.4 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	12
2.5 Antibiotik Ciprofloxacin	14
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA PENELITIAN	16
3.1 Kerangka Konseptual	16
3.2 Hipotesa Penelitian.....	17
BAB IV METODE PENELITIAN	18
4.1 Rancangan Penelitian	18
4.2 Populasi Sampel	18
4.3 Tehnik Sampling	19
4.4 Kerangka Kerja Penelitian.....	20
4.5 Variabel Penelitian	22
4.6 Instrumen Penelitian.....	23
4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	24
4.8 Teknik Analisis Data	24

BAB V	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	25
5.1	Hasil Penelitian.....	25
5.2	Pembahasan	29
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN	33
6.1	Kesimpulan.....	33
6.2	Saran	33
	DAFTAR PUSTAKA	34
	LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
Tabel 4.1	Seri konsentrasi ekstrak etanol 96% daun sirih merah (<i>Piper crocatum</i>) dan daun kelor (<i>Moringa oleifera L.</i>).....	22
Tabel 5.1	Hasil Ekstrak Daun Sirih Merah Dan Daun Kelor.....	26
Tabel 5.2	Hasil Uji Bebas Etanol	27
Tabel 5.3	Hasil identifikasi flavonoid ekstrak daun sirih merah dan daun kelor.....	27
Tabel 5.4	Hasil Daya Hambat Kombinasi Konsentrasi Daun sirih merah dan daun kelor	28

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2.1	Daun Sirih Merah.....	7
Gambar 2.2	Kerangka Flavonoid.....	9
Gambar 2.3	Daun Kelor.....	11
Gambar 2.4	Bakteri <i>Escherichia coli</i>	13
Gambar 3.1	Kerangka Penelitian	16

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Perhitungan Pembuatan Kombinasi dan Kontrol Negatif.....	36
Lampiran 2	Hasil Uji Flavonoid ekstrak daun sirih merah	37
Lampiran 3	Uji Flavonoid pada ekstrak daun kelor	37
Lampiran 4	Determinasi Daun Sirih Merah dan Daun Kelor	38
Lampiran 5	Hasil Uji Daya Hambat	39
Lampiran 6	Hasil Analisa Statistik	41

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya bagi Tuhan YME, oleh karena anugerah-Nya yang melimpah, kemurahan dan kasih setia yang besar akhirnya saya dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul “**UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*”, sebagai salah satu syarat untuk memenuhi tugas akhir dalam menyelesaikan study program diploma Pendidikan Ahli Madya Farmasi (A.Md. Farm) STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun. Selain itu juga dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan peneliti lainnya untuk menambah pengetahuan dalam bidang kesehatan khususnya farmasi.**

Karya Tulis ini penulis persembahkan kepada Papa tercinta (Alm. Yohanes Harminto) dan Mama (Eniwati) yang telah tulus ikhlas memberikan kasih sayang, cinta, doa, perhatian, dukungan moral dan materil yang telah diberikan selama ini penulis sampaikan terima kasih. Buat kakak-kakakku terkasih (Indah, Yahya, Harmin, dan Mei) Terima kasih. Tak lupa penulis sampaikan terima kasih kepada Ibu Vevi Maritha M. Farm., Apt sebagai dosen pembimbing I dan Ibu Susanti Erikania M. Farm., Apt sebagai dosen Pembimbing II beserta seluruh Bapalk/Ibu dosen yang telah membimbing dengan sabar selama di kampus. Ucapan terima kasih juga kepada teman - teman angkatan 2015 dan angkatan 2016 farmasi yang selalu memberikan semangat.

Saya selaku penulis menyadari banyak kekurangan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini, oleh karena itu penulis berharap adanya kritik dan saran agar karya tulis ilmiah ini dapat lebih mendekati sempurna. Dan saya mohon maaf atas kesalahan dan ketidaksempurnaan tersebut.

Madiun, 23 Agustus 2019

Penyusun

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Infeksi saluran kemih atau ISK adalah infeksi akibat berkembang biaknya mikroorganisme di dalam saluran kemih, yang dalam keadaan normal air kemih tidak mengandung bakteri, virus atau mikroorganisme lain. Infeksi saluran kemih dapat terjadi baik di pria maupun wanita dari semua umur, dan dari kedua jenis kelamin ternyata wanita lebih sering menderita dari pada pria (Sudoyo Aru, dkk., 2009). Infeksi saluran kemih ialah istilah umum untuk menyatakan adanya pertumbuhan bakteri di dalam saluran kemih, meliputi infeksi di parenkim ginjal sampai infeksi di kandung kemih. Pertumbuhan bakteri yang mencapai > 100.000 unit koloni per ml urin segar pancar tengah (midstream urine) pagi hari, digunakan sebagai batasan diagnosa infeksi saluran kemih (IDAI, 2011). Infeksi saluran kemih merupakan faktor resiko yang penting pada terjadinya insufisiensi ginjal atau stadium terminal sakit ginjal. Infeksi saluran kemih terjadi secara assending oleh sititis karena bakteri berasal dari flora fekal yang menimbulkan koloni perineum lalu bakteri masuk melalui uretra. Sementara di Indonesia, menemukan 55,56% isolat *Escherichia coli* pada pasien infeksi saluran kemih di Yogyakarta (Prabowo dkk., 2012).

Escherichia coli merupakan bakteri flora normal dalam usus, gram-negatif dan berbentuk batang. *Escherichia coli* tidak memiliki nukleus,

organel terbungkus membranmaupunsitoskeleton.*Escherichia coli* memiliki organel eksternal yaitu vili yang merupakanfilament tipis untuk menangkap substrat spesifik dan flagella yang merupakanfilament tipis dan lebih panjang untuk berenang. Strain tertentu dari *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (Karlowsky dkk., 2002). Sifat lain dari *Escherichia coli* adalah mempunyai persyaratan nutrisi yang harusmengandung sumber energi, karbon nitrogen,belerang unsurlogarn, vitamin dan air. *Escherichia coli* adalah penyebab utama infeksi nosokomial di rumah sakit (Anggreini, 2015).

Banyak cara yang dapat digunakan dalam pengobatan infeksi saluran kemih seperti penggunaan antibiotik, antibiotik golongan florokuinolon yang paling banyak digunakan untuk pengobatan infeksi saluran kemih adalah ciprofloxacin, terutama untuk yang disebabkan oleh bakteri gram-negatif khususnya *Escherichia coli*(Jaktaji dkk., 2012). Fluorokuinolon bekerja menghambat*topoisomerase* II (DNA gyrase) dan*topoisomerase* IV yang diperlukan oleh bakteriuntuk replikasi DNA dan protein bakteri. Hambatan ini menghasilkan efek sitoksik dalam sel target. Gugus fluorida telah diketahui bersifat neurotoksik dan obat yang menempel pada gugus fluorida dapat berpenetasike dalam jaringan yang sensitif termasukotak. Kemampuan fluorida untuk menembus**blood-brain barrier**, membuat fluorida bersifatneurotoksik kuat. Fluorida juga menggangguintesa kolagen, dan dapat merusak sistemimun dengan menghabiskan persediaan energidan menghambat pembentukan antibodi dalamdarah (Jaktaji and Mohiti, 2010).Penggunaan yang over dosis dan salah dapat mengarah ke munculnya resistensi ciprofloxacin (Raini, 2016).

Selain antibiotik yang digunakan untuk pengobatan infeksi saluran kemihobat dari bahan alam, di antaranya adalah tanaman sirih merah dan daun kelor yang diketahui dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*(Moerfiah dan Supomo, 2011). Daun sirih merah (*Piper crocatum*) mengandung senyawa flavonoid. Senyawa tersebut, memiliki aktivitas sebagai antimikroba yang aktif terhadap bakteri gram positif dan negatif, flavonoidmampu melepaskan energi tranduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteridi antaranya bakteri *Escherichia coli*(Reveny, 2011). Daun sirih merah berpotensi sebagai antibakteri pada pengobatan penyakitinfeksi. Daun kelor juga berkhasiat sebagai antibakteri penghambat aktivitas bakteri. Kandungan flavonoid yang terdapat pada daun kelor dapat menghambatpertumbuhan bakteri dengan mengganggu sintesis membran sel (Wardani dkk.,2012).Pada penelitian Ekstrak daun kelor dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*(Lusi dkk., 2016).Untuk mengetahui efek dari antibakteri *Escherichia coli* terhadap kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*)diperlukan suatu penelitian.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

- 1.2.1. Bagaimana daya hambat antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ?
- 1.2.2. Berapa konsentrasi kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) yang mampu mengahambat bakteri *Escherichia coli* ?

1.3. Tujuan Penelitian

- 1.3.1. Untuk mengetahui daya hambat antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.
- 1.3.2. Untuk mengetahui perbandingan konsentrasi kombinasi daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) yang memiliki daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk :

- 1.4.1. Memperkaya ilmu pengetahuan, khususnya yang berkaitan dengan adanya daya antibakteri suatu tanaman.
- 1.4.2. Memberikan informasi bahwa kombinasi ekstrak dari daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) dapat digunakan sebagai zat antibakteri.
- 1.4.3. Memberikan informasi sebagai bahan pertimbangan dalam pengobatan selain menggunakan obat kimia yang telah dipelajari oleh tenaga medis.
- 1.4.4. Sebagai persyaratan tugas akhir dalam memperoleh gelar Amd.farm (tenaga teknik kefarmasian) di Prodi Farmasi STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Sirih Merah

Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) tumbuh menjalar seperti halnya sirih hijau. Batangnya bulat bertangkai berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing. Bertepi rata, dan permukaannya mengkilap atau tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15-20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak putih keabu-abuan, bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Daunnya berlendir, berasa sangat pahit dan beraroma khas sirih. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm di setiap buku tumbuh bakal akar (Sudewo, 2005).

Sirih merah bisa tumbuh dengan baik di tempat yang teduh dan tidak terlalu banyak terkena sinar matahari. Jika terkena sinar matahari langsung pada siang hari secara terus-menerus warna merah daunnya bisa menjadi pudar, buram dan kurang menarik. Tanaman sirih merah akan tumbuh baik jika mendapatkan 60-75% cahaya matahari (Sudewo, 2005).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tumbuhan daun sirih merah, yaitu :

Kingdom	:	Plantae
Divisio	:	Maqnoliophyta
Class	:	Maqnoliopsida
Ordo	:	Piperales

Famili : Piperaceae
 Genus : Piper
 Spesies : *Piper crocatum* Ruiz dan Pav
 (Juliantina dkk, (2009) (Backer, 1965))



Gambar 2.1 Daun sirih merah (*Piper crocatum*)

(Berkah Walatra, 2017)

2.1.2 Deskripsi Tanaman

Batangnya bulat berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Permukaanya kasar dan bila terkena cahaya akan cepat mengering. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm. Di setiap buku tumbuh bakal akar. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, bertepi rata, dan permukaannya mengilap atau tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15-20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak warna putih keabu-abuan. Bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Daunnya berlendir, berasa sangat pahit, dan beraroma wangi khas sirih. Akar daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav) adalah akar tunggang yang bentuknya bulat dan

berwarna coklat kekuningan. Tanaman sirih merah tergolong langka karena tidak tumbuh di setiap atau daerah. Sirih merah tidak dapat tumbuh sebur di daerah panas. Sementara itu, di tempat berhawa dingin sirih merah dapat tumbuh dengan baik. Jika terlalubanyak terkena sinar matahari, batangnya cepat mengering, tetapi jika disiram secara berlebihan akar batang dapat membusuk. Tanaman sirih merah akan tumbuh dengan baik jika mendapatkan 60-70% cahaya matahari (Sudewo, 2010).

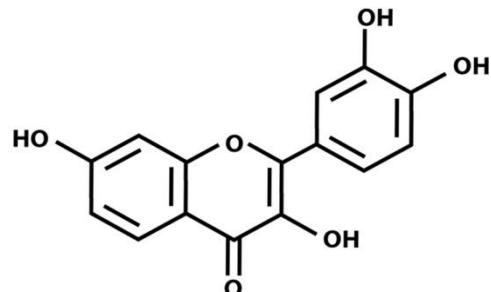
2.1.3 Manfaat

Daun sirih merah memiliki rasa pedas, bersifat hangat, simultan, astringen, dan aromatik. Sirih merah berkhasiat sebagai penenang (sedatif sentral), menenangkan lambung, tonik pada syaraf, tonik ringan, *aphrodisiac*, antiradang, menghilangkan gatal, penghenti perdarahan (*hemostatis*), antiseptik, antibakteri, mencegah infeksi cacing, peluruh kentut, merangsang keluarnya air liur, dan pereda batuk (Dalimarta, 2008). Secara empiris sirih merah digunakan sebagai obat kelelahan, asam urat, kencing manis, hepatitis, ambien, kanker, darah tinggi, dan sakit maag (Fitriyani dkk., 2011).

2.1.4 Kandungan

Daun sirih merah mengandung flavonoid, senyawa polevenolad, tanin, dan minyak atsiri. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein extraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mengandung C15 terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Struktur umum flavonoid dapat

juga digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ (Wina Sonya Puzi H dkk., 2015).



Gambar 2.2 Kerangka C₆-C₃-C₆ Flavonoid
(Arifin dkk, 2018)

Ada beberapa subkelas flavonoid: flavanols, flavanon, flavon, isoflavon, anthocyanidins, dan flavonol. Pembagian dalam subkelas flavonoid didasarkan pada sifat-sifat struktural. Flavanol ditemukan dalam anggur merah dan anggur merah (ex-catechins), flavanon ditemukan pada makanan sitrus (ex-narigenin), flavon (ex-apigenin) ditemukan dalam tanaman berdaun hijau, isoflavon ditemukan pada makanan kedelai, dan pada hampir semua makanan flavonol ditemukan. Flavonoid asal katekin terutama ditemukan pada teh hijau dan hitam dan anggur merah, sedangkan antosianin ditemukan pada stroberi dan buah beri lainnya, anggur, anggur dan teh. Flavonol banyak tersebar dalam tumbuhan baik sebagai pigmen antosianin dalam petal maupun dalam daun tumbuhan tingkat tinggi. Flavonol umumnya terdapat dalam bentuk glikosida dalam bentuk umum seperti kaemferol, kuersetin dan mirisetin. Rutin adalah jenis glikosida kuersetin yang paling banyak ditemui. Perbedaan antara flavon dan flavonol adalah pada flavon tidak ditemukannya gugus hidroksil pada atom C-3. Flavon yang sering dijumpai adalah apigenin dan luteolin. Flavonoid ini secara signifikan banyak ditemukan pada beberapa bagian tanaman seperti buah dan sayuran yang berperan

sebagai neurotrophin dalam mamalia, mengurangi angiogenesis, zat antioksidan, resistensi terhadap perubahan morfologi penuaan dan 7,8-dihidroksiflavon (flavon) dan metilasinya memiliki efek sitoprotektif melawan stres oksidatif(Dwidjoseputro, 1994).

2.2 Daun Kelor

Daun kelor (*Moringa oleifera* L.)mempunyai 8-10 pasang anak daun dengan arah yang berlawanan terhadap sumbu utama. Anak daun memiliki warna hijau dan berbentuk elips (tumpul pada apex dan runcing pada pangkal). Bunga kelor merupakan bunga biseksual (memiliki benang sari dan putik), berwarna putih dan terletak pada ketiak daun dengan panjang 10-25 cm dan lebar 4 cm (Rahman,2015). Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) dapat bertahan dalam musim kering yang panjang dan tumbuh dengan baik di daerah dengan curah hujan tahunan berkisar antara 250-1500 mm. Meskipun lebih suka tanah kering lempung berpasir atau lempung, tetapi dapat hidup di tanah yang didominasi tanah liat. Secara umum, parameter lingkungan yang dibutuhkan tanaman kelor untuk tumbuh dengan baik adalah iklimtropis atau sub-tropis, ketinggian 0-2000 meter dpl, suhu 25-35°C, pH tanah 5-9(Widowati, 2014).

2.2.1 Klasifikasi Tanaman

Menurut (Tilong, 2011) dalam (Hazani, 2014) klasifikasi daritanaman kelor (*Moringa oleifera* L) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	:Magnoliopsida
Kelas	:Magnoliopsida

Bangsa	:Brassicaceae
Suku	:Moringaceae
Marga	:Moringa
Jenis	: <i>Moringa oleifera</i> ,L

2.2.2 Deskripsi Tanaman

Tanaman(*Moringa oleifera* L.) atau biasa dikenal dengan sebutan daun kelor merupakan tanaman perdu dengan tinggi batang 7-11 meter. Batang berkayu getas (mudah patah), cabang jarang, tetapi mempunyai akar yang kuat. Bunga berbau semerbak, berwarna putih kekuningan, dan tudung pelepas bunganya berwarna hijau, sedangkan, buahnya berbentuk segitiga (Widowati, 2014).



Gambar 2.3 Daun Kelor
(Surya, 2018)

2.2.3 Kandungan

Zat-zat yang terkandung dalam daun (*Moringa oleifera*L.) sangat berguna bagi tubuh manusia. Menurut hasil penelitian, daun kelor ternyata mengandung vitamin A, vitamin C, vitamin B, kalsium, kalium, besi dan protein dalam jumlah sangat tinggi yang mudah dicerna dan diasimilasi oleh tubuh manusia (Hardiyanti, 2015). Daunkelor (*Moringa oleifera* L.) juga mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menjaga terjadinya oksidasi sel

tubuh. Selain itu, kandungan minyak atsiri dan flavonoid yang terdapat pada daun dapat mencegah peroksidasi lemak (Widowati, 2014).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lusidkk, 2016. Yaitu ekstrak daun kelor pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, dan 80% terbukti memberikan daya hambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (ciprofloxacin), pada konsentrasi 80% memiliki daya hambat yang sama dengan ciprofloxacin untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

2.3 Ekstrak Dengan Maserasi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat, bahan dan senyawa yang akan diisolasi (Sarker SD dkk., 2006).

2.3.1 Maserasi

Proses ekstraksi dengan teknik maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Keuntungan cara ini mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel. Pengerajan metode maserasi yang lama dan keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstraksi (Istiqomah, 2013).

2.4 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bagian famili Enterobacteriaceae, berbentuk batang pendek (coccobasil), gram negatif, ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , sebagian

bergerak positif dan beberapa strain memiliki kapsul dan tidak membentuk spora serta bersifat anaerob fakultatif, kebanyakan bersifat motil (dapat bergerak) dengan menggunakan flagella (Madappa dkk., 2016). Sebagian besar jenis *Escherichia coli* tidak berbahaya dan merupakan bakteri penting dari saluran cerna manusia yang sehat karena berfungsi menghasilkan vitamin K dan menjaga keseimbangan bakteri di usus. Tetapi beberapa strain *Escherichia coli* (patogenik) dapat menimbulkan penyakit infeksi, seperti infeksi pada kandung empedu, saluran kemih, selaput otak, paru, dan saluran cerna (Tantri, 2016).



Gambar 2.4 Bakteri *Escherichia coli*
(Kunkel D, 2009)

2.4.1 Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : *Escherichia coli*

2.4.2 Patogenesitas

Escherichia coli adalah anggota flora normal usus dan penyebab yang paling lazim dari infeksi kandung kemih. *Escherichia coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan, *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Tempat yang paling sering terkena infeksi yang paling penting secara klinik adalah saluran kemih, saluran empedu, dan tempat-tempat lain di rongga perut, kemudian ketika ketahanan tubuh inang tidak kuat dapat menimbulkan infeksi lokal yang secara klinik dapat mencapai aliran darah lalu menimbulkan sepsis. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral. Di dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Tristika dkk., 2015).

2.5 Antibiotik Ciprofloxacin

Antibiotik adalah senyawa kimia yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri, mekanisme kerja dari Fluorokuinolon adalah penghambatan enzim topoisomerase tipe II, yaitu DNA girase dan topoisomerase IV. Kedua enzim terlibat dalam replikasi DNA bakteri ; enzim girase melemaskan peregangan superkoll positif DNA sedangkan topoisomerase IV membatal kantautan DNA (Jaktaji dkk., 2010). Akibatnya terbentuk ikatan kompleks fluorokuinolon-DNA girase dan kompleks

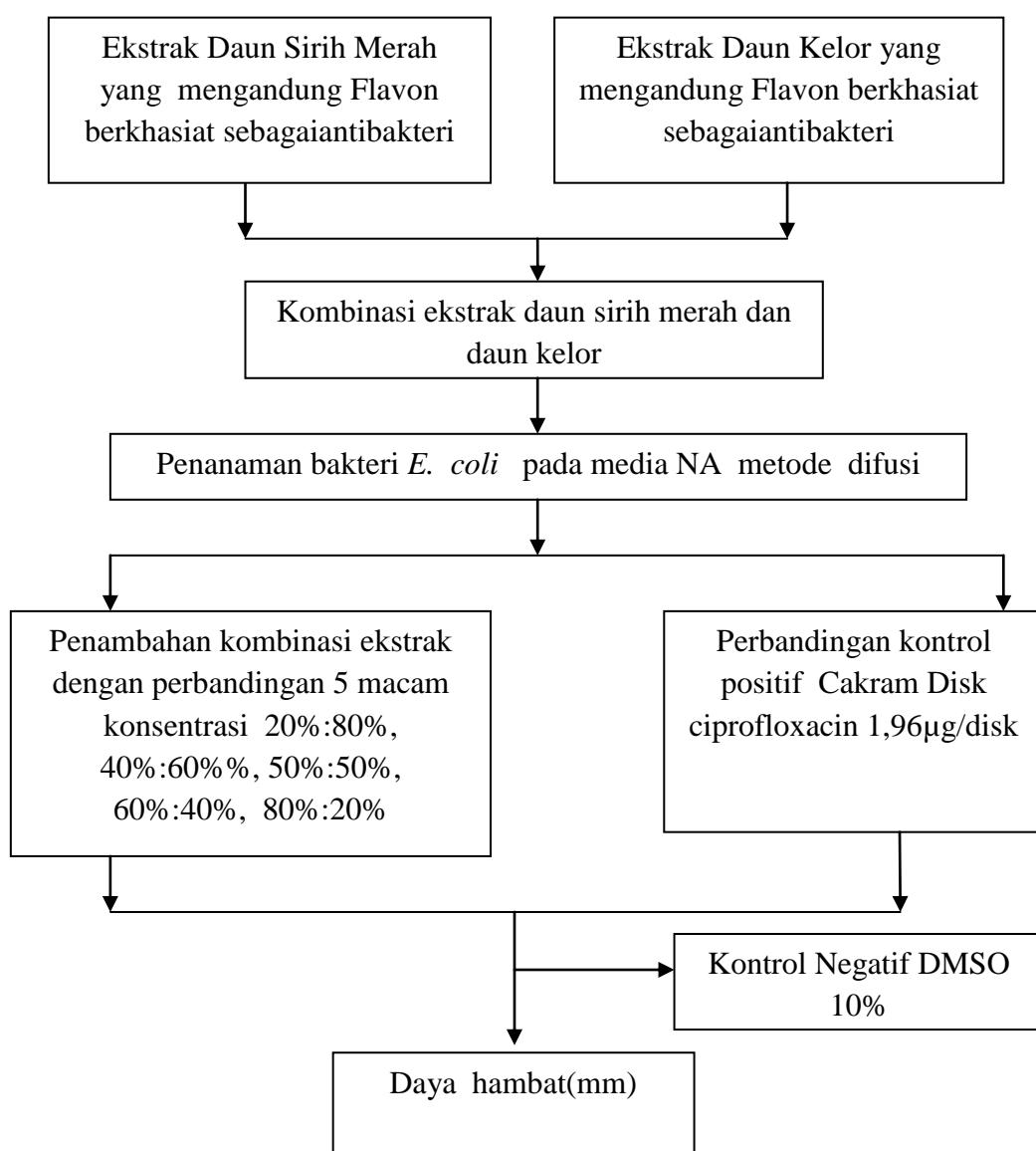
fluorokuinolon-DNA topoisomerase IV, menyebabkan replikasi DNA dihambat akhirnya kematian sel. Ciprofloxacin (*product number* : C031, CAS *number* : 86721-33-1, rumus molekul = $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, berat molekul = 331.34, *appearance* : faintly yellow powder) adalah fluorokuinolon generasi ke-2 yang bekerja menon-aktifkan produksi enzim DNA girase dan topoisomerase IV, dimana kedua enzim ini membantu dalam sintesis DNA dan protein bakteri (Setiabudi, 2007). Obat ini bekerja pada bakteri gram positif-negatif. Ciprofloxacin telah digunakan untuk mengobati berbagai macam infeksi, termasuk infeksi saluran kemih, aliran darah, usus atau saluran pernapasan (Kocsis, 2012).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Penelitian

Dari penelitian kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun kelor didapatkan kerangka penelitian sebagai berikut



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

3.2 Hipotesa Penelitian

- 3.2.1. Adanya kemampuan kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) 20%:80%, 40%:60%, 50%:50%, 60%:40%, 80%:20% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
- 3.2.2. Adanya perbedaan konsentrasi kemampuan kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dan ciprofloxacin 1,96 μ g/disk untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian eksperimen ini menggunakan desain penelitian analitik laboratorik dengan metode perbandingan kelompok statis, dan yang digunakan untuk mengekstraksi kandungan kimia dalam daun sirih merah dan daun kelor adalah dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Uji daya hambat antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi cakram untuk mengetahui daya hambat kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun kelor sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

4.2 Populasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun sirih merah dan daun kelor dari Desa Kebonagung Magetan. Di ekstraksi di Laboratorium Kimia STIKES Bhakti Husada Muliadu Madiun.

4.3 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan praktikan yaitu secara probability sampling atau random sampling, artinya setiap daun sirih merah dan daun kelor memiliki kesempatan yang sama untuk menjadi sampel dalam penelitian ini.

4.4 Kerangka Kerja

4.4.1.Determinasi Sampel

Langkah ini bertujuan untuk memastikan sampel daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman Sirih Merah dan Kelor terhadap kepustakaan yang dibuktikan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Tradisional, Tawangmangu Karanganyar, Jawa Tengah.

4.4.2.Penyiapan Bahan Untuk Ekstraksi

Sampel daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) disortir basah sebanyak 2 kg. Sampel basah kemudiandi angin-anginkan hingga kering selama 5 hari. Setelah kering, dilakukan penimbangan kembali bobot kering sampel.

4.4.3.Ekstraksi daun Sirih Merah dan daun Kelor

Masing-masing serbuk simplisia ditimbang sebanyak 300 gr, selanjutnya dimasukkan kedalam wadah maserasi, kemudian direndam dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 3 Liter. Wadah maserasi ditutup rapat dan di simpan pada tempat yang terlindungi dari cahaya matahari langsung selama 5 hari sambil dilakukan pengadukan beberapa kali. Hasil maserasi kemudian disaring untuk memisahkan cairan etanol dengan ampasnya, maka akan dihasilkan ekstrak cair. Ekstrak daun sirih merah dan daun kelor diuapkan menggunakan *rotary evapolator* pada

suhu 60° dengan kecepatan 7 rpm dan dipanaskan diatas *waterbath* pada suhu 60° untuk mendapatkan ekstrak kental.

4.4.4. Uji Bebas Etanol

Pengujian dilakukan dengan cara ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan H₂SO₄ dan asam asetat kemudian dipanaskan. Ekstrak dikatakan bebas etanol bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Sriyuni, dkk., 2016).

4.4.5. Uji Flavonoid

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram ditambahkan dengan etanol 96% dan serbuk Mg secukupnya, kemudian ditambahkan 5-6 tetes HCL pekat, membentuk warna merah yang menunjukkan adanya flavonoid dan pembentukan warna jingga.

4.4.6. Sterilisasi Alat

Semua peralatan yang akan digunakan dicuci bersih kemudian dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 atm selama 15 menit. Sedangkan untuk jarum ose disterilkan juga pada nyala bunsen. Pengrajan uji mikrobiologi dilakukan secara aseptis di dalam enkas yang sebelumnya telah dibersihkan dengan alkohol 70% dan disinari sinar UV yang dinyalakan 15 menit sebelum digunakan.

4.4.7. Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)

Media NA sebanyak 23 gram dilarutkan dengan aquades sampai 1 L dalam beacker glass, kemudian dihomogenkan dengan cara dipanaskan

hingga larut dan dilakukan sterilisasi dengan ditutup alumunium foil. Media tersebut disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 atm selama 15 menit. Selanjutnya tuang ke dalam cawan petri, tiap cawan petri berisi 15-20 ml dan dibiarkan sampai memadat, siap untuk digunakan.

4.4.8. Pembuatan Stok Bakteri

Menyiapkan biakan kultur bakteri diambil 2 ose lalu diinokulasi ke dalam media *Nutrient Agar*(NA). Selanjutnya kultur bakteri diambil 1 ose lalu digores ke *Nutrient Agar*(NA) miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mendapatkan stok bakteri.

4.4.9. Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak daun sirih merah dan daun kelor masing-masing dibuat konsentrasi dengan menggunakan DMSO 10%. Setiap seri konsentrasi dibuat dengan menambahkan DMSO 10% kedalam beberapa gram masing-masing ekstrak daun sirih merah dan daun kelor volume 10 ml. Konsentrasi dibuat 5 macam seri. Seri konsentrasi kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun kelor (dalam %) yaitu 20:80, 40:60, 50:50, 60:40, dan 80:20 dalam 10 ml larutan DMSO 10%. Lalu dilakukan replikasi sebanyak 2 kali pengulangan.

Tabel 4.1 Seri konsentrasi ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*).

Konsentrasi akhir ekstrak %	Berat ekstrak etanol 96% daun sirih merah dan daun kelor (gram)	Ditambahkan DMSO 10% (ml)	Replikasi
20:80	2:8	Ad 10	2 kali
40:60	4:6	Ad 10	2 kali
50:50	5:5	Ad 10	2 kali
60:40	6:4	Ad 10	2 kali
80:20	8:2	Ad 10	2 kali

4.4.10.Pengujian Aktivitas Antibakteri

Media uji *Nutrient Agar*(NA) yang telah ditanami bakteri *Escherichia coli* diletakkan kertas cakram kosong dengan diameter 0,6cm direndam pada masing-masing seri konsentrasi ekstrak selama 15 menit. Menggunakan kertas cakram antibiotik ciprofloxacin 1,96 μ g kontrol positif dan kontrol negatif. Selanjutnya dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri, diberi label dan diinkubasi pada suhu 35°C–37°C selama 24 jam. Tiap-tiap cawan petri diukur diameter zona hambat dengan replikasi 2 kali.

4.5 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variabel yang nantinya akan digunakan dalam penelitian. Yang terbagi menjadi beberapa bagian yaitu, variabel independen dan variabel dependen.

4.5.1.Variabel Independen

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*)

terhadap bakteri *Escherichia coli* dalam tingkat konsentrasi 20%, 40%, 50%, 60%, 80%.

4.5.2. Variabel Dependen

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat (mm) kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) terhadap *Escherichia coli* penyebab ISK.

4.5.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dimana antibiotik ciprofloxacin 1,96 μ g/disk sebagai kontrol positif dan larutan DMSO 10% pada media NA sebagai kontrol negatif.

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1. Alat Penelitian:

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rak, tabung reaksi(Pyrex), ose bulat, beker glass(Pyrex), pipet, kapas, cawan Petri(Iwaki), autoclave(My Life), incubator(Memmert),pinset,alumunium foil, timbangan analit(Shimadzu), timbangan digital(Shimadzu),corong(Iwaki),dan batang pengaduk.

4.6.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*), biakan bakteri *Escherichia coli*, Aquadest, media Nutrien Agar(NA) (Oxoid), Etanol

96%(Teknis), HCL pekat, disk antibiotik ciprofloxacin 1,96 μ g/disk(Teknis), dan DMSO 10%(Merck).

4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Labolaturium Biologi STIKES BHM Madiun. Waktu penelitian dimulai bulan Mei 2019 sampai Juli 2019.

4.8 Analisis Data

4.8.1. Mengukur zona hambat (mm) kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan berbagai konsentrasi yaitu 20%:80%, 40%:60%, 50%:50%, 60%:40%, 80%:20%, dan kontrol positif untuk mengetahui aktivitas ekstrak sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

4.8.2. Membandingkan zona hambat (mm) antara konsenterasi kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan kontrol positif. Menggunakan analisis *one way anova* pada spss 20.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Determinasi Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun sirih merah dan daun kelor dari daerah Magetan. Langkah berikutnya dilakukan determinasi tanaman daun sirih merah dan daun kelor, dimana determinasi bertujuan untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi secara mikroskopis tanaman daun sirih merah dan daun kelor terhadap kepustakaan, serta menghindari terjadinya kesalahan terhadap tanaman yang digunakan. Hal ini dibuktikan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT), Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Hasil dari determinasi tanaman daun sirih merah termasuk dalam spesies (*Piper croacatum Ruiz & Pav.*) dengan familia (*Piperaceae*) serta tanaman daun kelor merupakan spesies (*Moringa oleifera Lam.*) dengan familia (*Moringaceae*).

5.1.2 Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah Dan Daun Kelor

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3 liter selama 5 hari, menghasilkan ekstrak daun sirih merah dan daun kelor yang telah diperoleh filtrat dan dipekatkan dengan alat *rotaryevaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental dari masing-masing tanaman harus diuapkan diatas waterbath. Hasil ekstrak ditunjukkan pada tabel 5.1 dibawah ini :

Tabel 5.1 Hasil Ekstrak Daun Sirih Merah Dan Daun Kelor

Nama Ekstrak	Berat Serbuk Simplisia (gr)	Berat Ekstrak (gr)	Nilai Rendemen
Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>)	300	39,90	13,3%
Kelor (<i>Moringa oleifera L.</i>)	300	32,15	10,72%

Hasil nilai rendemen dapat diperoleh dengan membagi bobot ekstrak yang diperoleh dengan bobot simplisia asal yang telah dikurangi kadar air kemudian dikalikan 100%. Rendemen merupakan jumlah ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi simplisia. Hasil rendemen daun sirih merah yaitu 13,3% lebih kecil daripada penelitian sebelumnya yaitu 13,59%. Sedangkan untuk hasil rendemen daun kelor adalah 10,72% juga lebih kecil daripada penelitian sebelumnya yaitu 21,9%. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak.

Rumus rendemen yaitu : $\frac{\text{beratekstrakyangdiperoleh (gram)}}{\text{bobotsimplisiasebelumdiekstraksi (gram)}} \times 100\%$

5.1.3 Hasil Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya etanol pada ekstrak, dalam proses ekstraksi penelitian ini menggunakan etanol 96% sebagai pelarut kedua ekstrak daun sirih merah dan daun kelor. Hal ini dilakukan karena jika ekstrak masih mengandung etanol maka akan mempengaruhi uji daya hambat. Hasil uji bebas etanol ditunjukkan pada tabel dibawah ini :

Tabel 5.2 Hasil Uji bebas etanol ekstrak daun sirih merah dan daun kelor.

Nama Esktrak	Prosedur	Hasil
Daun Sirih Merah	Ekstrak+H ₂ SO ₄ +Asam Asetat → Dipanaskan	Tidak tercium bau ester
Daun Kelor	Ekstrak+H ₂ SO ₄ +Asam Asetat → Dipanaskan	Tidak tercium bau ester

5.1.4 Identifikasi Senyawa Flavonoid

Ekstrak kental daun sirih merah dan daun kelor yang diperoleh kemudian dilakukan uji flavonoid. Uji flavonoid yang dilakukan dengan mengamati perubahan warna pada larutan setelah diberi pereaksi larutan Magnesium (Mg) dan HCL pekat. Hasil penelitian ditunjukkan Hasil 1.3 dibawah ini :

Tabel 5.3 Hasil identifikasi flavonoid ekstrak daun sirih merah dan daun kelor

Tanaman	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Daun Sirih Merah	Magnesium (Mg), HCL pekat	Larutan berwarna jingga	+
Daun Kelor	Magnesium (Mg), HCL pekat	Larutan berwarna jingga	+

Keterangan :
 1. Positif (+), Mengandung Flavonoid
 2. Negatif (-), Tidak Mengandung Flavonoid

5.1.5 Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak

Pengujian daya hambat ekstrak daun sirih merah dan daun kelor, dibuat beberapa konsentrasi untuk mengetahui besarnya zona daya hambat antibakteri dari ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Kombinasi ekstrak yang digunakan adalah 20%:80%, 40%:60%, 50%:50%, 60%:40%, 80%:20%, kontrol positif Ciprofloxacin 1,96µg/disk dan kontrol negatif Larutan DMSO 10%. yang kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C–37°C. Hasil penelitian ditunjukkan dibawah ini:

Tabel 5.4 Hasil Daya Hambat Kombinasi Konsentrasi Daun sirih merah dan daun kelor

Perlakuan	Daya Hambat (mm)			Rata-rata (mm) & Standar Deviasi	Respon Hambat	Sig (p<0,05)
	I	II	III			
Kontrol (+)	15,00	15,15	15,10	15,08 ± 0,076376	Kuat	0,000
Kontrol (-)	0	0	0	0	0	
20%:80%	1,85	1,95	1,80	1,86 ± 0,076376	Lemah	
40%:60%	1,60	1,95	1,90	1,82 ± 0,189297	Lemah	
50%:50%	5,95	5,85	6,15	5,98 ± 0,152753	Sedang	
60%:40%	8,45	8,15	8,38	8,33 ± 0,15695	Sedang	
80%:20%	10,10	10,00	10,35	10,15 ± 0,180278	Kuat	

Keterangan :

1. (+) : Kelompok Kontrol Positif Ciprofloxacin 1,96 μ g
2. (-) : Kelompok Kontrol Negatif DMSO 10%
3. Kuat : Memiliki zona hambat 10-20mm
4. Sedang : Memiliki zona hambat 5-10mm
5. Lemah : Memiliki zona hambat 0-5mm

Menurut Nasri (2011) dalam Febrianasari (2018) Berdasarkan tabel 5.3 diketahui bahwa diameter daya hambat pada konsentrasi kombinasi 20%:80%, 40%:60% memiliki respon hambat lemah (0-5 mm), Pada konsentrasi kombinasi 50%:50%, 60%:40% memiliki respon hambat sedang (5-10mm), Sedangkan pada konsentrasi kombinasi 80%:20% dan kontrol positif memiliki respon hambat kuat (10-20 mm). Penelitian ini menggunakan kontrol negatif DMSO 10%. Hasil analisis *One-Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan dengan kontrol positif karena memiliki nilai p=0,000 (p<0,005).

5.2 Pembahasan

5.2.1 Uji Flavanoid Pada Ekstrak Kombinasi Daun Sirih Merah Dan Daun Kelor

Flavonoid merupakan salah satu senyawa alami yang banyak ditemukan dalam tumbuhan-tumbuhan (Arifin, dkk., 2018). Diantaranya tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid adalah tanaman sirih merah dan tanaman kelor. Flavonoid pada daun sirih merah dan daun kelor diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan metode maserasi. Setelah dilakukan maserasi dan diperoleh ekstrak maka diidentifikasi. Pada penelitian ini dilakukan dengan mengamati perubahan warna pada larutan uji yang telah diberi larutan pereaksi. Larutan pereaksi yang digunakan adalah larutan Magnesium (Mg) dan HCL pekat.

Identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun sirih merah dan daun kelor dilakukan dengan cara masing-masing 1 ml ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu diberi Magnesium sedikit dan HCL pekat 5-6 tetes sampai terjadi perubahan warna konstan pada larutan uji. Hasil identifikasi senyawa flavonoid pada masing-masing ekstrak daun sirih merah dan daun kelor menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid, hal ini dilihat dari hasil perubahan warna larutan uji daun sirih merah yang ditunjukkan dengan warna jingga namun jumlahnya sedikit (Boen S, dkk., 2018). Menurut Septyaningsih pada tahun 2010 menyatakan bahwa, ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, setelah penambahan logam Mg dan HCL akan terbentuk warna merah atau jingga.

5.2.2 Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah Dan Daun Kelor

Uji daya hambat antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) dilakukan untuk mengetahui kemampuan beberapa konsentrasi kombinasidalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar sumuran. Berdasarkan uji fitokimia pada penelitian sebelumnya, bahwa daun sirih merah mengandung senyawa flavonoid (Safitri, dkk., 2005) maka senyawa tersebut bersifat polar, Oleh karena itu penggunaan etanol merupakan pelarut yang tepat untuk mengekstrak.

Pengujian daya hambat ekstrak daun sirih merah dan daun kelor terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa antara pembanding ciprofloxacin 1,96 μ g sebagai kontrol positif dan 5 seri ekstrak konsentrasi kombinasi 20%:80%, 40%:60%, 50%:50%, 60%:40%, 80%:20% menunjukkan adanya daya hambat antibakteri yang berbeda-beda, Sebagai kontrol negatif digunakan DMSO 10%. Penghambatan antibakteri *Escherichia coli* dengan kombinasi daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) disebabkan adanya pengaruh senyawa flavanoid yang terkandung didalamnya, Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Ma'rifah, 2012).

Menurut Nasri (2011) dalam Febrianasari (2018) bahwa kekuatan daya hambat antara 0-5mm termasuk dalam kategori lemah, kekuatan daya

hambat antara 5-10mm termasuk kategori sedang dan kekuatan daya hambat antara 10-20mm termasuk kategori kuat. Berdasarkan tabel 5.3 diketahui bahwa diameter daya hambat pada konsentrasi kombinasi 20%:80% yaitu (1,86mm), 40%:60% yaitu (1,82mm) memiliki respon hambat lemah (0-5 mm), pada konsentrasi kombinasi 50%:50% yaitu (5,98mm), 60%:40% yaitu (8,33mm) memiliki respon hambat sedang (5-10mm), Sedangkan pada konsentrasi kombinasi 80%:20% yaitu (10,15mm) dan kontrol positif ciprofloxacin 1,96 μ g yaitu (15,08 mm) memiliki respon hambat kuat (10-20 mm), Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Irawati, dkk., 2015 dan Fatimawali, dkk., 2016 bahwa ekstrak daun sirih merah dapat menghambat bakteri pada konsentrasi 2,5% sebesar 14,3mm dan ekstrak daun kelor pada konsentrasi 5% sebesar 13,33mm. Penelitian ini menggunakan kontrol negatif DMSO 10% yang tidak memberikan respon daya hambat. Hasil analisis *One-Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan dengan kontrol positif karena memiliki nilai $p=0,000$ ($p<0,005$).

Berdasarkan penelitian ini pada kombinasi ekstrak 80%:20% memberikan respon daya hambat paling besar yaitu 10,15mm dengan kategori kuat, pada kombinasi 50%:50% dan 60%:40% memberikan respon daya hambat sedang dengan hasil pengukuran masing-masing 5,98mm dan 8,33mm, Sedangkan pada kombinasi 20%:80% dan 40%:60% memberikan respon daya hambat lemah dengan hasil pengukuran masing-masing 1,86mm dan 1,82mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah lebih

dominan menghambat pertumbuhan bakteri daripada ekstrak daun kelor dibuktikan dengan kandungan daun sirih merah lebih besar karena terdapat senyawa-senyawa lain yang dapat mendukung proses penghambatan pertumbuhan bakteri seperti pada penelitian Irawati, dkk., 2015 menyatakan salah satunya senyawa fenol yang merusak dan menembus dinding serta mengendapkan protein sel bakteri dan senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim essensial di dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perbedaan tiap konsentrasi kombinasi yang berbeda menurut Jawetz 1996 dalam Nurlina, dkk pada tahun 2016 dipengaruhi oleh 4 faktor, Yaitu konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat. Konsentrasi juga dapat berpengaruh terhadap kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yaitu semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar kemampuan ekstrak tersebut untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Nurlina, dkk., 2016).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Pada penelitian uji daya hambat antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) terhadap *Escherichia coli* dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Kombinasi Ekstrak daun sirih merah dan daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia Coli* yang ditunjukkan pada konsentrasi 20%:80%, 40:60%, masing-masing dengan diameter daya hambat yaitu 1,88mm, 1,82mm. kombinasi ekstrak dengan konsentrasi 50%:50%, 60%:40%, yang memberikan daya hambat dengan nilai 5,98mm dan 8,33mm.
2. Kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun kelor (*Moringa oleifera L.*) mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Pada inkubasi 24 jam nilai daya hambat tertinggi terdapat pada ekstrak dengan konsentrasi kombinasi 80%:20% yaitu (10,15mm).

6.2 Saran

Untuk penelitian lebih lanjut perlu dilakukan metode ekstraksi yang lain pada kedua tanaman daun sirih merah dan daun kelor dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar dkk.2007. *Moring oleifera : A Food Plant With Multipe Medical Uses.* *Phytother. Res.* 21, (17-25).
- Dalimartha. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia.* 5. Depok : Puspa Swara.
- Dian Saraswati. 2011. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Terhadap Daya Hambat Escherichia coli.* Jurnal. UN Gorontalo.
- Diah Ayu Setyowati. 2017. *Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum X Africanum Lour.) Terhadap StaphylococcusAureus Menggunakan Metode Difusi.* KTI. Stikes Bhakti Husada Muliadun.
- Dwidjoseputro. 1994. *Dasar – dasar Mikrobiologi.* Jakarta: Djambatan.
- Febby Hardiyanti. 2015. *Pemanfaatan Aktivitas Antioksi dan Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera) Dalam Sediaan Hand And Body Cream.* Skripsi. UIN Jakarta.
- Ganiswarna S. G. 1995. Farmakologi dan Terapi, Ed. 4, UI-Fakultas Kedokteran. Jakarta.
- Imas Widowati, Siti Efiyati, dan Sari Wahyuningtyas, 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera) Terhadap Bakteri Pembusuk Ikan Segar (Pseudomonas Aeruginosa).* Jurnal. Universitas Negeri Yogyakarta.
- IDAI. 2011. *Pedoman pelayanan medis.* Jakarta : Badan Penerbit IDAI.
- Istiqomah. 2013,Desember. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa(Piperis Retrofracti Fructus).* Skripsi. UIN Jakarta.
- Jaktaji dkk. 2012. Study Of Organic Solvent Tolerance and Increased Antibiotic Resistence Properties in E. coli gryA Mutants. Iranian Journal of pharmaceutical research. 11(2):595-600.
- Jawetz dkk. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran.* Edisi ke-20 (Alih bahasa Nugroho & R. F. Maulany). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal. 211,213,215.

- Juliantina dkk. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial Terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Yogjakarta.
- Karlowsky dkk. 2002. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolate of *Escherichia coli* from female out-patients in the United State. *Antimicrob Agents Chemother*, 1(1) : 1-4..
- Moerfiah & Supomo. 2011. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Bakteri Penyebab Sakit Gigi. *Ekologia*.
- Prabowo, F.I., I.Habib. 2012. *Identifikasi pola kepekaan dan jenis bakteri pada pasien infeksi saluran kemih di rumah sakit PKU Muhammadiyah Yogyakarta*. Mutiara Medika, 12(2) ; Mei : 93-101.
- Reveny. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak & Fraksi Daun Sirih Merah. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. Natural products isolation. In: Sarker SD, Latif Z, Gray AI, editors. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. Hal. 6-10, 18.
- Setiabudi R. 2007. *Golongan kuinolon danfluorokuinolon*. Dalam: Farmakologi dan terapi. Edisi 7. Gaya baru, Jakarta : 718-9.
- Sudewo. 2005. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: PT. Agro Media Pustaka.
- Sudewo. 2010. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: PT. Agro Media Pustaka.
- Sudoyo Aru, dkk. 2009. *Buku Ajar ilmu Penyakit Dalam, jilid II, edisi V*. Jakarta.
- Tristika Aulia Syahrinastiti, Aziz Djamal, Lili Irawati. 2015. *Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) terhadap Pertumbuhan Escherichia coli*. Padang: Jurnal Kesehatan Andalas.
- Widagdo. 2011. *Masalah dan Tatalaksana Penyakit Infeksi Pada Anak* . Jakarta: Sagung Seto.
- Widagdo. 2012. *Masalah dan Tatalaksana Penyakit Anak dengan Demam*. Jakarta: Sagung Seto.

LAMPIRAN

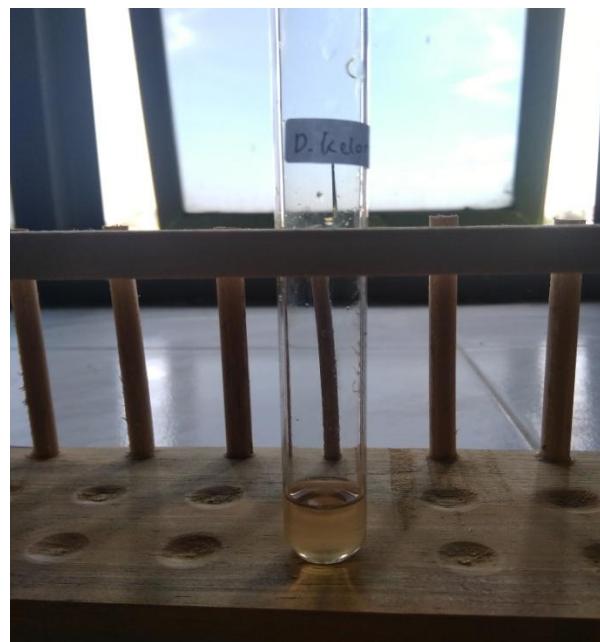
Lampiran 1. Perhitungan Pembuatan Kombinasi dan Kontrol Negatif

Pembuatan konsentrasi pada kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun kelor				
Konsentrasi	Rumus	Ekstrak daun sirih merah (gr)	Ekstrak daun kelor (gr)	Add pelarut DMSO 10% (ml)
20%:80%	$\frac{\text{Berat}}{\text{Volume}}$	2	8	10
40%:60%		4	6	10
50%:50%		5	5	10
60%:40%		6	4	10
80%:20%		8	2	10

Lampiran 2. Hasil Uji Flavonoid pada ekstrak daun sirih merah



Lampiran 3. Hasil Uji Flavonoid pada ekstrak daun kelor



Lampiran 4. Surat Hasil Keputusan Determinasi



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL
Jalan Raya Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah 57792
Telepon : (0271) 697010 Faksimile : (0271) 697451
Surat Elektronik b2p2to2t@gmail.com / b2p2to2t@litbang.depkes.go.id
Laman www.b2p2toot.litbang.kemkes.go.id

Nomor : YK.01.03/2/24442/2019
Hal : Keterangan Determinasi

24 Juli 2019

Yth. Ketua Prodi Diploma III Farmasi
STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun
Jalan Taman Praja Kec. Taman
Madiun

Merujuk surat Saudara nomor: 021/D3Farm/STIKES/BHM/U/I/2019 tanggal 18 Januari 2019 hal permohonan determinasi, dengan ini kami sampaikan bahwa hasil determinasi sampel tanaman sebagai berikut:

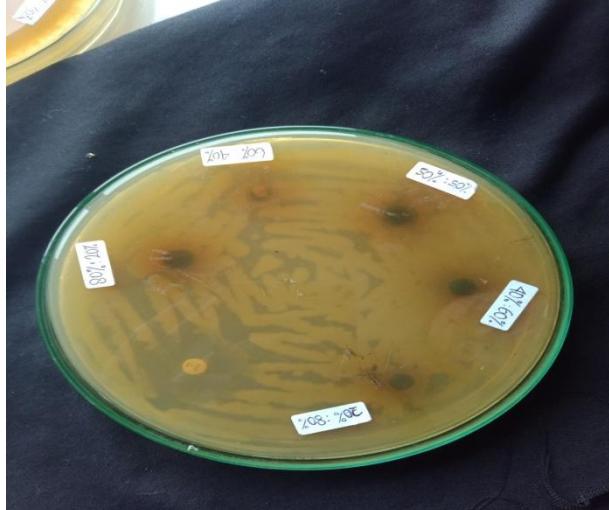
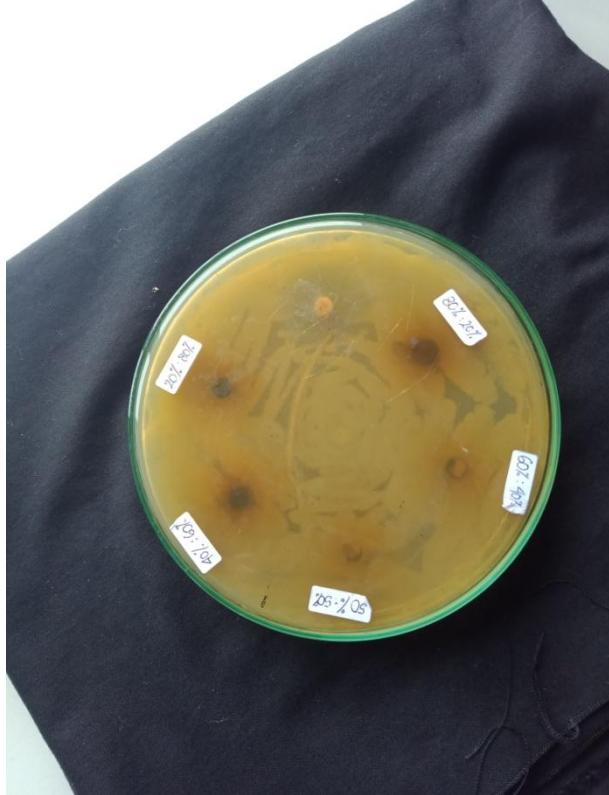
Nama Sampel	Daun Sirih Merah	Daun Kelor
Sampel	Tanaman Hidup	Tanaman Hidup
Spesies	<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav.	<i>Moringa oleifera</i> Lam.
Sinonim	<i>Steffensia crocata</i> (Ruiz & Pav.) Kunth	<i>Guilandina moringa</i> L.; <i>Moringa zeylanica</i> Burmann
Familia	Piperaceae	Moringaceae
Nama Pemohon	Desi Listyorini	
Penanggung Jawab	Anshary Maruzy, S.Si.	
Identifikasi		

Hasil determinasi tersebut hanya mencakup sampel tumbuhan yang telah dikirimkan ke B2P2TOOT.

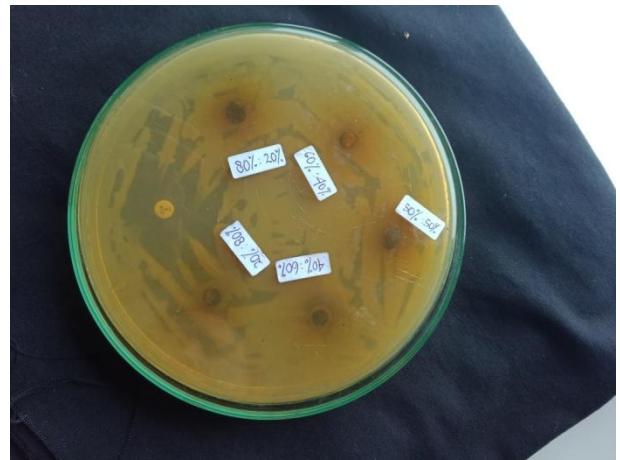
Atas perhatian Saudara, kami sampaikan terima kasih.



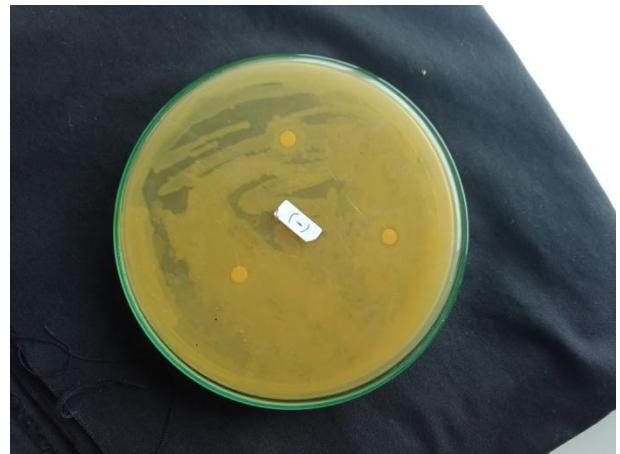
Lampiran 5. Hasil Daya Hambat Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah dan Daun Kelor

PERLAKUAN 1 KONSENTRASI KOMBINASI 20%:80%, 40%:60%, 50%:50%, 60%:40%, 80%:40%, Dan KONTROL POSITIF CIPROFLOXACIN 1,96 μ g/disk	 A Petri dish containing a yellow agar medium. A white antibiotic disk is placed in the center, surrounded by a zone of inhibition where bacterial growth is inhibited. Several small white paper labels are attached to the perimeter of the dish, each containing handwritten text such as '20% : 80%', '40% : 60%', '50% : 50%', '60% : 40%', '80% : 40%', and 'Kontrol'.
PERLAKUAN 2 KONSENTRASI KOMBINASI 20%:80%, 40%:60%, 50%:50%, 60%:40%, 80%:40%, Dan KONTROL POSITIF CIPROFLOXACIN 1,96 μ g/disk	 A Petri dish containing a yellow agar medium. A white antibiotic disk is placed in the center, surrounded by a zone of inhibition where bacterial growth is inhibited. Several small white paper labels are attached to the perimeter of the dish, each containing handwritten text such as '20% : 80%', '40% : 60%', '50% : 50%', '60% : 40%', '80% : 40%', and 'Kontrol'.

PERLAKUAN 3
KONSENTRASI
KOMBINASI 20%:80%,
40%:60%, 50%:50%,
60%:40%, 80%:40%, Dan
KONTROL POSITIF
CIPROFLOXACIN
1,96 μ g/disk



KONTROL NEGATIF
DMSO 10%



Lampiran 6. Hasil Uji One Way Anova Pada Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah dan Daun Kelor

Case Processing Summary

	Data	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
ZonaHa mbat	Kontrol Positif	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
	Kontrol Negatif	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
	Kombinasi 20%:80%	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
	Kombinasi 40%:60%	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
	Kombinasi 50%:50%	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
	Kombinasi 60%:40%	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
	Kombinasi 80%:20%	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%

Descriptives^a

	Data	Statistic	Std. Error
Kontrol Positif	Mean	15,0833	,04410
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	14,8936
		Upper Bound	15,2731
	5% Trimmed Mean	.	.
	Median	15,1000	.
	Variance	,006	.
	Std. Deviation	,07638	.
	Minimum	15,00	.
	Maximum	15,15	.
	Range	,15	.
ZonaHa mbat	Interquartile Range	.	.
	Skewness	-,935	1,225
	Kurtosis	.	.
	Mean	1,8667	,04410
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,6769
		Upper Bound	2,0564
	5% Trimmed Mean	.	.
	Median	1,8500	.
	Variance	,006	.
	Std. Deviation	,07638	.
Kombinasi 20%:80%	Minimum	1,80	.
	Maximum	1,95	.
	Range	,15	.
	Interquartile Range	.	.
	Skewness	,935	1,225
	Kurtosis	.	.

	Mean		1,8167	,10929
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,3464	
		Upper Bound	2,2869	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		1,9000	
Kombinasi	Variance		,036	
40%:60%	Std. Deviation		,18930	
	Minimum		1,60	
	Maximum		1,95	
	Range		,35	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1,597	1,225
Kombinasi	Kurtosis		.	
50%:50%	Mean		5,9833	,08819
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,6039	
		Upper Bound	6,3628	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		5,9500	
Kombinasi	Variance		,023	
50%:50%	Std. Deviation		,15275	
	Minimum		5,85	
	Maximum		6,15	
	Range		,30	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		,935	1,225
Kombinasi	Kurtosis		.	
60%:40%	Mean		8,3267	,09062
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7,9368	
		Upper Bound	8,7166	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		8,3800	
Kombinasi	Variance		,025	
60%:40%	Std. Deviation		,15695	
	Minimum		8,15	
	Maximum		8,45	
	Range		,30	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1,353	1,225
Kombinasi	Kurtosis		.	
80%:20%	Mean		10,1500	,10408
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	9,7022	

		Upper Bound	10,5978	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		10,1000	
	Variance		,032	
	Std. Deviation		,18028	
	Minimum		10,00	
	Maximum		10,35	
	Range		,35	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1,152	1,225
	Kurtosis		.	.

a. ZonaHambat is constant when Data = Kontrol Negatif. It has been omitted.

Tests of Normality^b

	Data	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ZonaHa mbat	Kontrol Positif	,253	3	.	,964	3	,637
	Kombinasi 20%:80%	,253	3	.	,964	3	,637
	Kombinasi 40%:60%	,337	3	.	,855	3	,253
	Kombinasi 50%:50%	,253	3	.	,964	3	,637
	Kombinasi 60%:40%	,300	3	.	,913	3	,430
	Kombinasi 80%:20%	,276	3	.	,942	3	,537

a. Lilliefors Significance Correction

b. ZonaHambat is constant when Data = Kontrol Negatif. It has been omitted.

Descriptives

ZonaHambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Positif	3	15,0833	,07638	,04410	14,8936	15,2731	15,00	15,15
Kontrol Negatif	3	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Kombinasi 20%:80%	3	1,8667	,07638	,04410	1,6769	2,0564	1,80	1,95
Kombinasi 40%:60%	3	1,8167	,18930	,10929	1,3464	2,2869	1,60	1,95
Kombinasi 50%:50%	3	5,9833	,15275	,08819	5,6039	6,3628	5,85	6,15
Kombinasi 60%:40%	3	8,3267	,15695	,09062	7,9368	8,7166	8,15	8,45
Kombinasi 80%:20%	3	10,1500	,18028	,10408	9,7022	10,5978	10,00	10,35
Total	21	6,1752	5,13222	1,11994	3,8391	8,5114	,00	15,15

Test of Homogeneity of Variances

ZonaHambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,248	5	12	,347

ANOVA

ZonaHambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	393,071	5	78,614	3686,002	,000
Within Groups	,256	12	,021		
Total	393,327	17			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZonaHambat

	(I) Data	(J) Data	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	15,08333	,11040	,000	14,7064	15,4603	
	Kombinasi 20%:80%	13,21667	,11040	,000	12,8397	13,5936	
	Kombinasi 40%:60%	13,26667	,11040	,000	12,8897	13,6436	
	Kombinasi 50%:50%	9,10000	,11040	,000	8,7230	9,4770	
	Kombinasi 60%:40%	6,75667	,11040	,000	6,3797	7,1336	
	Kombinasi 80%:20%	4,93333	,11040	,000	4,5564	5,3103	
	Kontrol Positif	-15,08333	,11040	,000	-15,4603	-14,7064	
	Kombinasi 20%:80%	-1,86667	,11040	,000	-2,2436	-1,4897	
	Kontrol Negatif	-1,81667	,11040	,000	-2,1936	-1,4397	
	Kombinasi 40%:60%	-5,98333	,11040	,000	-6,3603	-5,6064	
Kontrol Negatif	Kombinasi 50%:50%	-8,32667	,11040	,000	-8,7036	-7,9497	
	Kombinasi 60%:40%	-10,15000	,11040	,000	-10,5270	-9,7730	
	Kontrol Positif	-13,21667	,11040	,000	-13,5936	-12,8397	
	Kontrol Negatif	1,86667	,11040	,000	1,4897	2,2436	
	Kombinasi 20%:80%	,05000	,11040	,999	-,3270	,4270	
	Kombinasi 40%:60%	-4,11667	,11040	,000	-4,4936	-3,7397	
	Kombinasi 50%:50%	-6,46000	,11040	,000	-6,8370	-6,0830	
	Kombinasi 60%:40%	-8,28333	,11040	,000	-8,6603	-7,9064	
	Kontrol Positif	-13,26667	,11040	,000	-13,6436	-12,8897	
	Kontrol Negatif	1,81667	,11040	,000	1,4397	2,1936	
Tukey HSD	Kombinasi 40%:60%	Kombinasi 20%:80%	-,05000	,11040	,999	-,4270	,3270
	Kombinasi 50%:50%	Kombinasi 50%:50%	-4,16667	,11040	,000	-4,5436	-3,7897
	Kombinasi 60%:40%	Kombinasi 60%:40%	-6,51000	,11040	,000	-6,8870	-6,1330
	Kombinasi 80%:20%	Kombinasi 80%:20%	-8,33333	,11040	,000	-8,7103	-7,9564
	Kontrol Positif	Kontrol Positif	-9,10000	,11040	,000	-9,4770	-8,7230
	Kontrol Negatif	Kontrol Negatif	5,98333	,11040	,000	5,6064	6,3603
	Kombinasi 50%:50%	Kombinasi 20%:80%	4,11667	,11040	,000	3,7397	4,4936
	Kombinasi 40%:60%	Kombinasi 40%:60%	4,16667	,11040	,000	3,7897	4,5436
	Kombinasi 60%:40%	Kombinasi 60%:40%	-2,34333	,11040	,000	-2,7203	-1,9664
	Kombinasi 80%:20%	Kombinasi 80%:20%	-4,16667	,11040	,000	-4,5436	-3,7897
LSD	Kontrol Positif	Kontrol Positif	-6,75667	,11040	,000	-7,1336	-6,3797
	Kontrol Negatif	Kontrol Negatif	8,32667	,11040	,000	7,9497	8,7036
	Kombinasi 60%:40%	Kombinasi 20%:80%	6,46000	,11040	,000	6,0830	6,8370
	Kombinasi 40%:60%	Kombinasi 40%:60%	6,51000	,11040	,000	6,1330	6,8870
	Kombinasi 50%:50%	Kombinasi 50%:50%	2,34333	,11040	,000	1,9664	2,7203
	Kombinasi 80%:20%	Kombinasi 80%:20%	-1,82333	,11040	,000	-2,2003	-1,4464
	Kontrol Positif	Kontrol Positif	-4,93333	,11040	,000	-5,3103	-4,5564
	Kontrol Negatif	Kontrol Negatif	10,15000	,11040	,000	9,7730	10,5270
	Kombinasi 80%:20%	Kombinasi 20%:80%	8,28333	,11040	,000	7,9064	8,6603
	Kombinasi 40%:60%	Kombinasi 40%:60%	8,33333	,11040	,000	7,9564	8,7103
Kontrol Positif	Kombinasi 50%:50%	Kombinasi 50%:50%	4,16667	,11040	,000	3,7897	4,5436
	Kombinasi 60%:40%	Kombinasi 60%:40%	1,82333	,11040	,000	1,4464	2,2003
	Kontrol Negatif	Kontrol Negatif	15,08333	,11040	,000	14,8466	15,3201
	Kombinasi 20%:80%	Kombinasi 20%:80%	13,21667	,11040	,000	12,9799	13,4534

	Kombinasi 40%:60%	13,26667*	,11040	,000	13,0299	13,5034
	Kombinasi 50%:50%	9,10000*	,11040	,000	8,8632	9,3368
	Kombinasi 60%:40%	6,75667*	,11040	,000	6,5199	6,9934
	Kombinasi 80%:20%	4,93333*	,11040	,000	4,6966	5,1701
	Kontrol Positif	-15,08333*	,11040	,000	-15,3201	-14,8466
	Kombinasi 20%:80%	-1,86667*	,11040	,000	-2,1034	-1,6299
Kontrol Negatif	Kombinasi 40%:60%	-1,81667*	,11040	,000	-2,0534	-1,5799
	Kombinasi 50%:50%	-5,98333*	,11040	,000	-6,2201	-5,7466
	Kombinasi 60%:40%	-8,32667*	,11040	,000	-8,5634	-8,0899
	Kombinasi 80%:20%	-10,15000*	,11040	,000	-10,3868	-9,9132
	Kontrol Positif	-13,21667*	,11040	,000	-13,4534	-12,9799
	Kontrol Negatif	1,86667*	,11040	,000	1,6299	2,1034
Kombinasi 20%:80%	Kombinasi 40%:60%	,05000	,11040	,658	-,1868	,2868
	Kombinasi 50%:50%	-4,11667*	,11040	,000	-4,3534	-3,8799
	Kombinasi 60%:40%	-6,46000*	,11040	,000	-6,6968	-6,2232
	Kombinasi 80%:20%	-8,28333*	,11040	,000	-8,5201	-8,0466
	Kontrol Positif	-13,26667*	,11040	,000	-13,5034	-13,0299
	Kontrol Negatif	1,81667*	,11040	,000	1,5799	2,0534
Kombinasi 40%:60%	Kombinasi 20%:80%	-,05000	,11040	,658	-,2868	,1868
	Kombinasi 50%:50%	-4,16667*	,11040	,000	-4,4034	-3,9299
	Kombinasi 60%:40%	-6,51000*	,11040	,000	-6,7468	-6,2732
	Kombinasi 80%:20%	-8,33333*	,11040	,000	-8,5701	-8,0966
	Kontrol Positif	-9,10000*	,11040	,000	-9,3368	-8,8632
	Kontrol Negatif	5,98333*	,11040	,000	5,7466	6,2201
Kombinasi 50%:50%	Kombinasi 20%:80%	4,11667*	,11040	,000	3,8799	4,3534
	Kombinasi 40%:60%	4,16667*	,11040	,000	3,9299	4,4034
	Kombinasi 60%:40%	-2,34333*	,11040	,000	-2,5801	-2,1066
	Kombinasi 80%:20%	-4,16667*	,11040	,000	-4,4034	-3,9299
	Kontrol Positif	-6,75667*	,11040	,000	-6,9934	-6,5199
	Kontrol Negatif	8,32667*	,11040	,000	8,0899	8,5634
Kombinasi 60%:40%	Kombinasi 20%:80%	6,46000*	,11040	,000	6,2232	6,6968
	Kombinasi 40%:60%	6,51000*	,11040	,000	6,2732	6,7468
	Kombinasi 50%:50%	2,34333*	,11040	,000	2,1066	2,5801
	Kombinasi 80%:20%	-1,82333*	,11040	,000	-2,0601	-1,5866
	Kontrol Positif	-4,93333*	,11040	,000	-5,1701	-4,6966
	Kontrol Negatif	10,15000*	,11040	,000	9,9132	10,3868
Kombinasi 80%:20%	Kombinasi 20%:80%	8,28333*	,11040	,000	8,0466	8,5201
	Kombinasi 40%:60%	8,33333*	,11040	,000	8,0966	8,5701
	Kombinasi 50%:50%	4,16667*	,11040	,000	3,9299	4,4034
	Kombinasi 60%:40%	1,82333*	,11040	,000	1,5866	2,0601

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

ZonaHambat

	Data	N	Subset for alpha = 0.05					
			1	2	3	4	5	6
Tukey HSD ^a	Kontrol Negatif	3	,0000					
	Kombinasi 40%:60%	3		1,8167				
	Kombinasi 20%:80%	3		1,8667				
	Kombinasi 50%:50%	3			5,9833			
	Kombinasi 60%:40%	3				8,3267		
	Kombinasi 80%:20%	3					10,1500	
	Kontrol Positif	3						15,0833
Sig.			1,000	,999	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.