

**UJI DAYA HAMBAT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN  
SELEDRI (*Apium graveolens* L.) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)  
TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**



**KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Menyelesaikan  
Program Pendidikan DIII Farmasi**

**Oleh:**

**Kurnia Putri Anggraini**

**NIM :13253 FB**

**AKADEMI FARMASI NASIONAL**

**SURAKARTA**

**2016**

**UJI DAYA HAMBAT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN  
SELEDRI (*Apium graveolens* L.) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)  
TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**

**KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Menyelesaikan  
Program Pendidikan DIII Farmasi**

**Oleh:**

**Kurnia Putri Anggraini**

**NIM :13253 FB**

**AKADEMI FARMASI NASIONAL**

**SURAKARTA**

**2016**

**PENGESAHAN**

Karya Tulis Ilmiah ini telah diuji dan dipertahankan di hadapan Dewan Penguji

Di Akademi Farmasi Nasional Surakarta

pada tanggal 20 Februari 2016

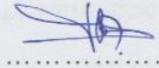
Surakarta, 01 JUN 2016

Direktur




AKADEMI FARMASI NASIONAL SURAKARTA  
C.E. Dhurkonia, S.Farm., M.Sc

Dewan Penguji:

1. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc., Apt. (Ketua)  .....

2. Ardy Prian Nirwana, M.Si (Anggota)  .....

3. Novena Y. L., S.Farm., M.Sc., Apt. (Anggota)  .....

## PERSEMBAHAN

“Sesungguhnya di mana ada kesulitan di situ ada kelapangan. Karena itu bila engkau sudah selesai dari suatu pekerjaan segeralah mengerjakan urusan yang lain. Namun berharaplah kepada Tuhanmu“

(QS. Al Insyirah : 6-8)

*Jika kamu menginginkan datangnya pelangi, maka kamu harus siap dengan datangnya hujan*

KARYA TULIS INI KUPERSEMBAHKAN UNTUK :  
KEDUA ORANG TUA , BAPAK IBU TERCINTA YANG SELALU MENDOAKANKU , MEMBERIKU  
SEMANGAT DAN SELALU ADA UNTUKKU  
MAS BAGAS CHRISSTYAWAN YANG SELALU MEMBERIKU SEMANGAT  
DAN ALMAMATERKU

## PRAKATA

*Alhamdulillahirobbil'alamin*, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Uji Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922”**.

Karya Tulis Ilmiah ini disusun untuk diajukan sebagai salah satu persyaratan menyelesaikan program Diploma III Farmasi di Akademi Farmasi Nasional Surakarta. Selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak yang sangat berguna bagi penulis. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih pada:

1. C.E. Dhurhania, S.Farm., M.Sc selaku Direktur Akademi Farmasi Nasional Surakarta.
2. Imam Prayitno, S.Farm., Apt selaku pembimbing dalam proses penyusunan Karya Tulis Ilmiah.
3. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc., Apt selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Yusianti, M.Pd selaku penguji Karya Tulis Ilmiah.
5. Ardy Prian Nirwana, M.Si selaku penguji Karya Tulis Ilmiah.
6. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc., Apt selaku penguji Karya Tulis Ilmiah.

7. Puji Dwi Astuti, A.Md selaku Asisten Dosen pembimbing yang telah memberikan petunjuk dan bimbingan selama praktikum kepada penulis.
8. Segenap Dosen, Karyawan dan Staf Akademi Farmasi Nasional Surakarta, terutama Staf Laboratorium Mikrobiologi dan laboratorium OT yang telah banyak membantu bagi kelancaran pelaksanaan karya tulis ilmiah ini.
9. Rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah memberikan bantuan dalam bentuk apapun sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharap kritik dan saran pembaca untuk kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini. Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat menambah pengetahuan di bidang Farmasi.

Surakarta, Februari 2015

Penulis

## INTISARI

Daun seledri dan daun sirih mengandung senyawa kimia flavonoid, saponin dan tanin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat kombinasi ekstrak etanol daun seledri dan daun sirih terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode difusi.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Kombinasi konsentrasi ekstrak daun seledri dan daun sirih yang digunakan adalah 25%:75%; 50%:50% dan 75%:25%. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik *cefotaxime* 30 µg. Pengukuran diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi Kirby&Bauer dan dianalisis statistika dengan metode *One Way* ANOVA.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa kombinasi ekstrak daun seledri dan daun sirih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil zona hambat kontrol positif, kombinasi 25%:75%; 50%:50%; 75%:25% dan kontrol negatif menghasilkan diameter zona hambat 39,16 mm; 27,03 mm; 22,66 mm; 21,60 mm dan 6,0 mm. Kombinasi ekstrak daun seledri dan daun sirih 25%:75% belum sebanding dengan antibiotik *cefotaxime* 30 µg dengan nilai signifikansi sebesar 0,000, yang berarti terdapat perbedaan bermakna hasil distribusi daya hambat pada kontrol positif maupun perbandingan kombinasi ekstrak. Kombinasi ekstrak daun seledri dan daun sirih yang menghasilkan diameter zona hambat tertinggi pada kombinasi 25%:75%.

**Kata Kunci :** daya hambat, kombinasi, daun seledri, daun sirih, *Escherichia coli* ATCC 25922, metode difusi.

## ABSTRACT

Celery leaves and betel leaves contain chemical compounds flavonoids, saponins and tannins that can inhibit the growth of bacteria *Escherichia coli*. This study aims to determine the inhibitory combination of ethanol extract of celery leaves and betel leaves against *Escherichia coli* ATCC 25922 with a diffusion method.

The extraction method used is macerated with 70% ethanol. The combination of celery leaf extract concentration and betel leaves are used is 25%: 75%; 50%: 50% and 75%: 25%. Positive control used is the antibiotic cefotaxime 30 µg. Measuring the diameter of inhibition zone of *Escherichia coli* using the diffusion method of Kirby and Bauer and analyzed statistical methods One Way ANOVA.

The results of this study demonstrate that the combination of extracts of celery leaves and betel leaf can inhibit the growth of bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922. The results of the positive control inhibition zone, a combination of 25%: 75%; 50%: 50%; 75%: 25% and negative controls resulted in inhibition zone diameter 39.16 mm; 27.03 mm; 22.66 mm; 21,60 mm and 6.0 mm. The combination of extracts of celery leaves and betel leaves 25%: 75% do not have a potential comparable to the antibiotic cefotaxime 30 g with a significance value of 0.000, which means that there are significant differences in the distribution of the results of inhibition in positive control or comparison combination of extracts. The combination of extracts of celery leaves and betel leaf that produces the highest inhibition zone diameter on a combination of 25%: 75%.

**Keywords:** inhibitory activity, combination, celery leaves, betel leaves, *Escherichia coli* ATCC 25922, dilution method.



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
PENGESAHAN .....	ii
PERSEMBAHAN .....	iii
PRAKATA .....	iv
INTISARI .....	vi
<i>ABSTRACT</i> .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
A. Tanaman Seledri .....	5
1. Sistematika tanaman .....	5
2. Nama daerah .....	5
3. Morfologi tanaman .....	5
4. Kegunaan dan kandungan kimia seledri .....	6
B. Tanaman Sirih .....	6
1. Sistematika tanaman .....	6
2. Daun sirih .....	7
C. Simplisia .....	8
1. Pengertian .....	8
2. Pengeringan simplisia .....	8
D. Ekstraksi .....	9

1. Pengertian ekstrak .....	9
2. Pengertian ekstraksi .....	9
3. Metode maserasi .....	9
4. Larutan penyari .....	10
E. Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	10
1. Sistematika klasifikasi bakteri <i>Escheichia coli</i> ATCC 25922 .....	10
2. Morfologi dan sifat .....	11
3. Struktur antigen .....	12
F. <i>Cefotaxime</i> .....	13
G. Metode Pengujian Bakteri .....	14
1. <i>Disc diffusion</i> (Kirby&Bauer) .....	14
2. <i>E-test</i> .....	14
3. <i>Ditch-plate technique</i> .....	15
4. <i>Cup-plate technique</i> .....	15
5. <i>Gradient-plate technique</i> .....	15
6. Metode dilusi .....	15
H. Hipotesis .....	16
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>17</b>
A. Desain Penelitian .....	17
B. Waktu dan Tempat Penelitian .....	17
C. Populasi dan Sampel .....	17
D. Besar Sampel .....	18
E. Variabel .....	19
F. Kerangka Pikir .....	20
G. Alur Kerja .....	21
H. Alat dan Bahan .....	22
I. Cara Kerja .....	22
J. Analisa Data .....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>26</b>

A. Preparasi Sampel .....	26
B. Hasil Pengujian Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri dan Daun Sirih .....	27
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>33</b>
A. Kesimpulan .....	33
B. Saran .....	34
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>35</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>38</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel I. Kategori Daya Hambat Antibiotik <i>Cefotaxime</i> 30 µg terhadap Bakteri <i>Escheichia coli</i> (CLSI, 2006) .....	14
Tabel II. Hasil Rendemen Ekstrak Daun Seledri dan Daun Sirih .....	26
Tabel III. Hasil Diameter Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri dan Daun Sirih terhadap Bakteri <i>Escheichia coli</i> .....	29
Tabel IV. Kategori Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri dan Daun Sirih terhadap bakteri <i>Escheichia coli</i> (CLSI, 2006) .....	30
Tabel V. Uji Post Hoc Test Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri dan Daun Sirih terhadap bakteri <i>Escheichia coli</i> .....	31

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	11
Gambar 2. Bagan Kerangka Pikir .....	20
Gambar 3. Skema Jalan Penelitian .....	21
Gambar 4. Ekstrak Kental Daun Seledri .....	42
Gambar 5. Ekstrak Kental Daun Sirih .....	42
Gambar 6. Stok Ekstrak Kental .....	43
Gambar 7. Diameter Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri dan Daun Sirih terhadap <i>bakteri Escheichia coli</i> .....	44
Gambar 8. Diameter Zona hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif .....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	39
Lampiran 2. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol	
Daun Seledri dan Daun Sirih .....	40
Lampiran 3. Hasil Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanol	
Daun Seledri dan Daun Sirih .....	41
Lampiran 4. Foto Ekstrak Daun Seledri dan Daun Sirih .....	42
Lampiran 5. Foto Larutan Stok Ekstrak .....	43
Lampiran 6. Foto Hasil Uji Daya Hambat Kombinasi Daun Seledri	
Dan Daun Sirih terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	44
Lampiran 7. Hasil Analisis statistik menggunakan <i>One Way ANOVA</i> .....	46

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

*World Health Organization* (WHO) mengingatkan, negara-negara berkembang khususnya di Asia Tenggara perlu lebih memperhatikan kasus diare dan pneumonia dalam program kesehatan nasional. Diare hingga kini masih menjadi penyebab utama kematian anak berusia di bawah lima tahun (balita) di Asia Tenggara. Di Indonesia, diare adalah pembunuh balita nomor dua setelah ISPA. Kematian yang terjadi berhubungan dengan kejadian diare pada anak-anak atau usia lanjut dikarenakan kesehatan pada usia pasien tersebut rentan terhadap dehidrasi sedang sampai berat. Frekuensi kejadian diare pada Negara Indonesia lebih banyak 2-3 kali dibandingkan dengan Negara maju (Tadda, 2010).

Diare merupakan penyebab kematian pada balita dan membunuh lebih dari 1,5 juta orang/tahun. Penyebab diare karena infeksi paling umum adalah bakteri. Berdasarkan keterangan dari beberapa rumah sakit untuk kasus diare akut yang terjadi di Indonesia, lebih dominan disebabkan oleh *Escherichia coli* yaitu antara 20-30% (Widiana, 2012).

Daun seledri (*Apium graveolens* L.) mengandung apiin, apiol, tannin, saponin dan flavanoid, selain itu juga mengandung vitamin A, B dan C serta mengandung kalsium dan besi (Dalimartha, 1998). Daun seledri (*Apium graveolens* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Candida albicans* (Rachmawati, 2014). Menurut penelitian Khaerati dan Ihwan (2011), pemberian ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) mempunyai pengaruh terhadap

bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 20,83 mm pada konsentrasi 4%. Berdasarkan penelitian Majidah (2014), pemberian ekstrak seledri memiliki daya anti bakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung minyak atsiri dan senyawa turunannya seperti terpinen, karoten, tiamin, eugenol, vitamin C, kavikol dan flavonoid (Syukur dan Hernani, 1999). Menurut penelitian Mursito (2002) air rebusan daun sirih dapat digunakan sebagai bakteriosid terhadap *Haemophylus influenza*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus haemoliticus*. Menurut penelitian Hermawan (2007) pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) mempunyai pengaruh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 10,57 mm pada konsentrasi 5%.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, daun seledri dan daun sirih masing-masing memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Masih diperlukan penelitian lanjutan untuk pengobatan dengan menggunakan kombinasi dari daun seledri dan daun sirih, oleh karena itu peneliti tertarik untuk meneliti lebih lanjut tentang daya hambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kombinasi ekstrak daun seledri dan daun sirih dengan metode *diffusi disk*



## B. Perumusan Masalah

1. Apakah kombinasi ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?
2. Apakah terdapat perbedaan daya hambat tiap konsentrasi kombinasi ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?
3. Apakah kombinasi ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki potensi daya hambat yang sebanding dengan antibiotik *cefotaxime* 30 µg?
4. Pada kombinasi ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) manakah yang menghasilkan diameter zona hambat tertinggi dalam pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?

## C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui daya hambat kombinasi ekstrak etanol dari daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. Untuk mengetahui perbedaan kombinasi daya hambat tiap konsentrasi dari kombinasi ekstrak etanol dari daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
3. Untuk mengetahui potensi daya hambat yang sebanding dari kombinasi ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap antibiotik *cefotaxime* 30 µg.

4. Untuk mengetahui kombinasi ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) yang mampu menghasilkan diameter zona hambat tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas senyawa antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan metode ekperimental, dengan melihat potensi daya hambat kombinasi ekstrak etanol dari daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

#### **B. Waktu dan Tempat Penelitian**

##### **1. Tempat**

Tempat penelitian dilakukan di laboratorium mikrobiologi Akademi Farmasi Nasional Surakarta.

##### **2. Waktu**

Waktu penelitian dilakukan dari bulan November 2015 sampai Januari 2016.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

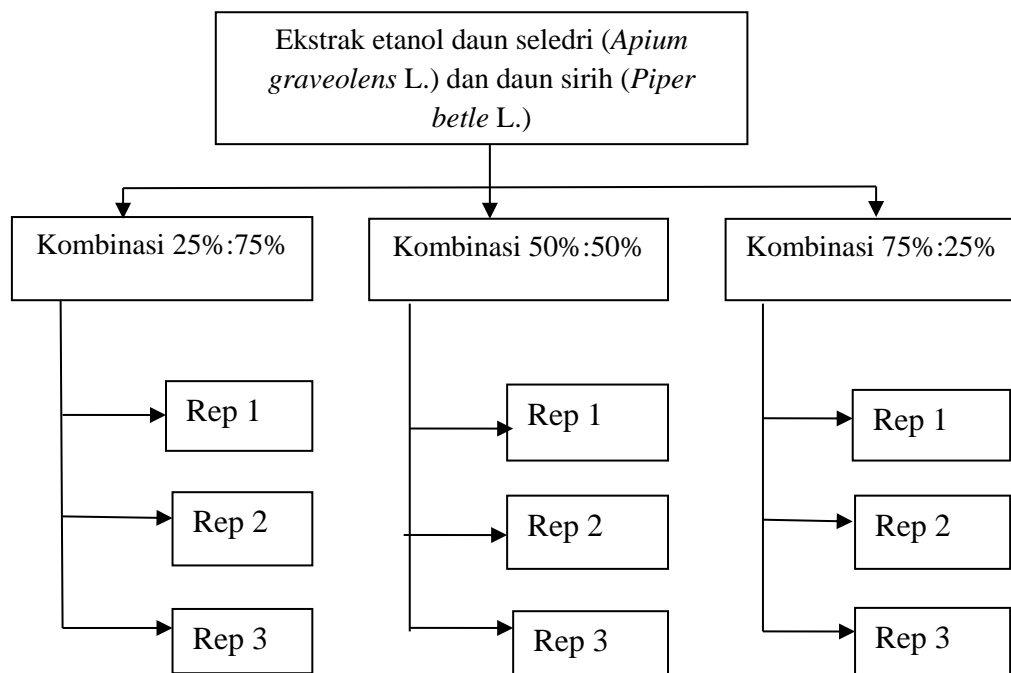
Populasi dalam penelitian ini adalah daun seledri dan daun sirih yang diperoleh dari desa Sudimoro, kecamatan Teras, kabupaten Boyolali tahun 2015.

##### **2. Sampel**

Sampel dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak etanol daun seledri dan daun sirih dengan variasi konsentrasi 25%:75%; 50%:50% dan

75%:25%. Daun yang diambil berupa daun yang berwarna hijau tua, bersih, bebas dari penyakit, bagian daun tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda (daun ketiga atau keempat setelah pucuk).

#### D. Besar Sampel



#### E. Variabel

##### 1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun seledri dan daun sirih dengan kombinasi 25%:75%; 50%:50% dan 75%:25%.

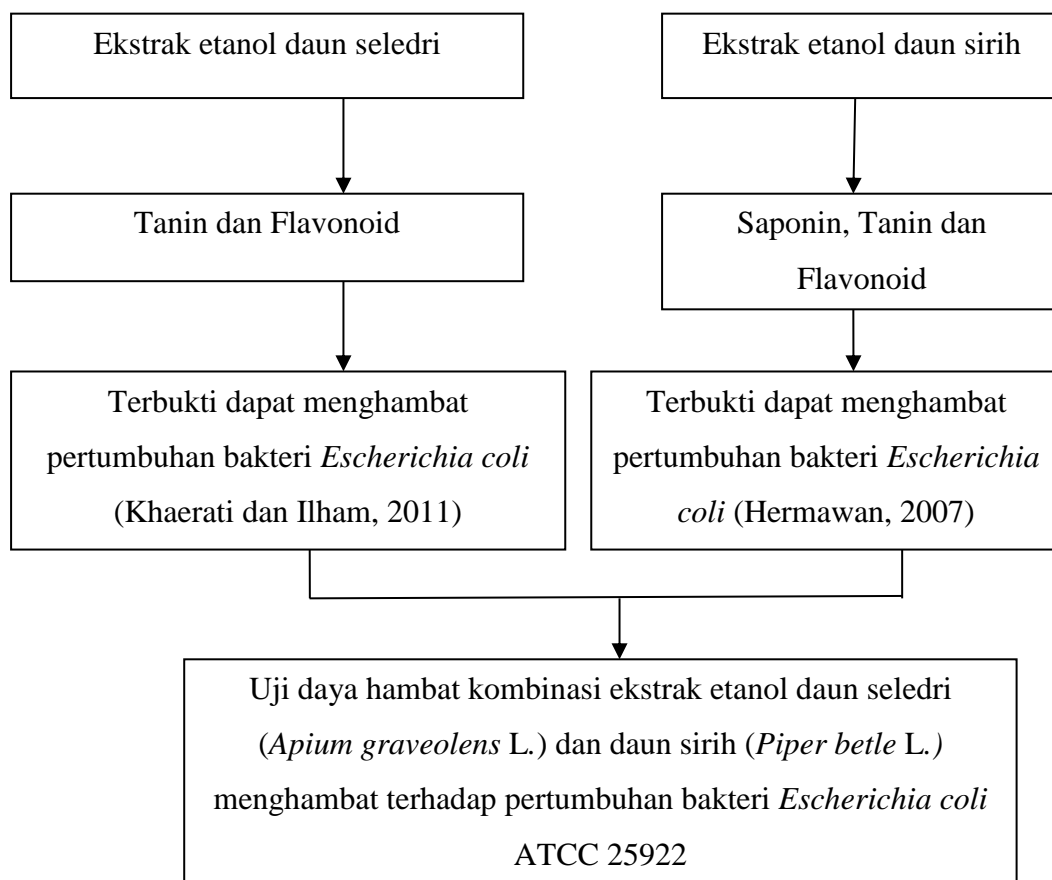
##### 2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat kombinasi ekstrak daun seledri dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

### 3. Variabel terkontrol

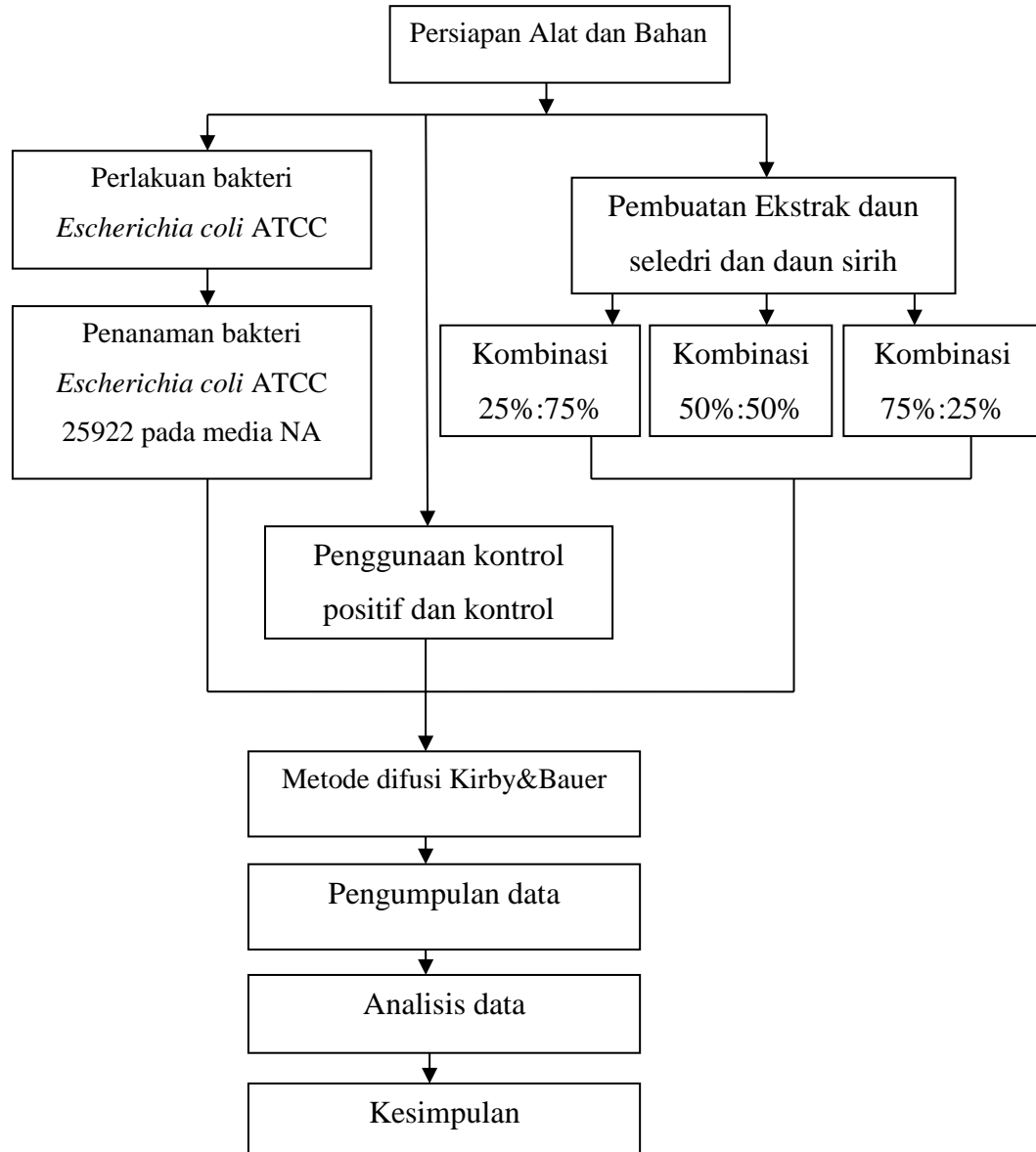
Variabel terkontrol dalam penelitian adalah kondisi penelitian di Laboratorium dikerjakan secara aseptis.

### F. Kerangka Pikir



**Gambar 2.** Bagan Kerangka Pikir Uji Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

### G. Alur Kerja



Gambar 3. Skema Jalannya Penelitian

## H. Alat dan Bahan

### 1. Alat yang digunakan

Timbangan, blender, pisau, tabung reaksi, gelas ukur 100 ml, cawan petri, *autoclave*, *ohse* bulat dan lurus, labu ukur 5 ml, kapas lidi steril, pinset steril, lampu spiritus, jangka sorong, *paper disk steril* dan inkubator.

### 2. Bahan yang digunakan

Daun seledri, daun sirih, *aquadest*, suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, nutrien agar, *disk antibiotic cefotaxime* 30 µg, NaCl 0,9% steril, standart neflometer Mc Farland 0,5 (kepadatan konsentrasi bakteri  $1,5 \times 10^8$  /ml).

## I. Cara Kerja

### 1. Persiapan alat

Alat-alat yang digunakan seperti cawan petri, tabung reaksi, kapas lidi, dan pinset disterilisasi di dalam *autoclaf* selama 20 menit dengan suhu 121°C.

### 2. Pembuatansimplisia

Daun seledri dan daun sirih dicuci dahulu dengan menggunakan air mengalir sampai bersih, dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam. Simplisia diblender sampai menjadi serbuk dan ditimbang sebanyak 200 gram.

### 3. Pembuatan ekstrak etanol daun seledri dan daun sirih

Serbuk kering daun seledri dan daun sirih sebanyak 200 gram, dimasukan dalam bejana dan ditambahkan alkohol 70% sebanyak 7,5 kali

bobot serbuk. Maserasi dilakukan selama 5 hari dalam bejana tertutup dan diaduk setiap hari. Maserat disaring dan diuapkan dalam *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

#### 4. Penetapan persen rendemen

Penetapan persentase rendemen diperoleh dengan ditimbang hasil ekstrak pekat, kemudian hasil dari ekstrak pekat dibagi dengan berat serbuk daun seledri dan daun sirih kering kemudian dikalikan 100%.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

#### 5. Pembuatan medium Nutrien Agar (NA)

Serbuk NA sebanyak 24 gram dilarutkan dalam 1 liter aquadest dan dipanaskan sampai serbuk NA larut sempurna. Cairan NA disterilkan dalam *autoklaf* pada suhu 121°C selama 15 menit dan dimasukkan dalam cawan petri steril.

#### 6. Persiapan suspensi bakteri

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dibiakkan terlebih dahulu pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Empat sampai lima koloni *Escherichia coli* ATCC 25922 hasil biakan diambil dengan *ohse* steril kemudian dimasukkan dalam larutan NaCl 0,9% dan diukur tingkat kekeruhannya sesuai dengan standart Mc Farland 0,5 yang setara dengan kepadatan konsentrasi bakteri  $1,5 \times 10^8$  /ml (Hermawan, 2007).

#### 7. Pembuatan larutan uji

- a. Dibuat larutan uji kombinasi ekstrak etanol daun seledri dan daun sirih dengan perbandingan (25%:75%) sebanyak 5 ml.



Ditimbang sebanyak 1,25 g ekstrak etanol daun seledri dari konsentrasi 100%, dicampur dengan 3,75g ekstrak etanol daun sirih dari konsentrasi 100%, dilarutkan dengan etanol sampai 5 ml, diaduk hingga homogen sehingga diperoleh perbandingan (25%:75%).

- b. Dibuat larutan uji kombinasi ekstrak etanol daun seledri dan daun sirih dengan perbandingan (50%:50%) sebanyak 5 ml.

Ditimbang sebanyak 2,5 g ekstrak etanol daun seledri dari konsentrasi 100%, dicampur dengan 2,5 g ekstrak etanol daun sirih dari konsentrasi 100%, dilarutkan dengan etanol sampai 5 ml, diaduk hingga homogen sehingga diperoleh perbandingan (50%:50%).

- c. Dibuat larutan uji kombinasi ekstrak etanol daun seledri dan daun sirih dengan perbandingan (75%:25%) sebanyak 5 ml

Ditimbang sebanyak 3,75 g ekstrak etanol daun seledri dari konsentrasi 100%, dicampur dengan 1,25 g ekstrak etanol daun sirih dari konsentrasi 100%, dilarutkan dengan etanol sampai 5 ml, diaduk hingga homogen sehingga diperoleh perbandingan (75%:25%).

## 8. Penentuan uji daya hambat

Suspensi Bakteri diinokulasikan secara perataan pada permukaan media Nutrien Agar *plate* menggunakan kapas lidi steril secara aseptis, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Disk antibiotik *cefotaxime* 30 µg diletakkan ke dalam petri sebagai kontrol positif dan *blank disc* berisi etanol 70% sebagai kontrol negatif. Secara aseptis, *blank disc* yang sudah direndam selama 5 menit pada kombinasi ekstrak etanol daun seledri

dan daun sirih (25%:75%); (50%:50%) dan (75%;25%) diletakkan pada masing-masing cawan petri secara terpisah dan teratur menggunakan pinset steril. Uji dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

## **9. Pembacaan hasil**

Besarnya diameter zona hambat (satuan mm) diukur pada daerah jernih sekitar *blank disc* dari masing-masing perlakuan terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media Nutrien Agar *plate*, kemudian diukur dengan jangka sorong.

## **J. Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis dengan metode uji *One Way* ANOVA. Uji yang dipergunakan dalam ANOVA adalah uji F karena yang dipakai untuk pengujian lebih dari 2 perlakuan sampel. Syarat uji ANOVA adalah distribusi data harus normal dan varian data harus sama.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Ekstrak daun seledri dan daun sirih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan nilai signifikansi sebesar 0,000.
2. Terdapat perbedaan zona hambat pada setiap kombinasi ekstrak daun seledri dan daun sirih konsentrasi 25%;75% menghasilkan diameter zona hambat 27,03 mm; konsentrasi 50%:50% menghasilkan diameter zona hambat 22,66 mm dan konsentrasi 75%:25% menghasilkan diameter zona hambat 21,60 mm dengan nilai signifikansi sebesar 0,000.
3. Kemampuan menghambat ekstrak daun seledri dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada kombinasi 25%:75% belum sebanding dengan antibiotik *cefotaxime* 30 µg.
4. Kombinasi ekstrak daun seledri dan daun sirih yang mampu menghasilkan diameter zona hambat tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada kombinasi 25%:75% dengan rata-rata diameter zona hambat 27,03 mm.

#### B. Saran

Perlu penelitian lebih lanjut tentang formulasi sediaan farmasi dengan zat aktif kombinasi daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1989, *Bakteriologi Klinik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 30-32.
- Charles L, Amstrong L, Goldanman M, Lance L, 2006, *Drug Information Handbook 4<sup>th</sup> Ed.* 186, Lexi Comp, Las Vegas
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2007. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Sixteenth Informational Supplement*. M100-S16 Vol. 26 No. 3
- Djauharia, E, 2003, Seledri (*Apium graveolens L.*), *Tanaman Obat Potensial, Perkembangan Teknologi TRO* Vol XV. No. 1, Jakarta
- Dalimartha, S., 2006, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Volume 4*, Niaga Swadaya, Jakarta.
- Depkes RI, 1985, *Tanaman Obat Indonesia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 27, 71
- Depkes RI, 1979, *Farmakope Indonesia* Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 9
- Depkes RI, 1995, *Farmakope Indonesia* Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Depkes RI, 2000, *Pedoman Pelajaran Uji Klinik Obat Tradisional*, Direktur Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. Hal 1-5
- Depkes RI, 2003, *Farmakognosi Jilid I*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000, *Sediaan galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. Hal.8-10
- Hermawan, A, 2007, Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betleL.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi *Disk*, *Artikel Ilmiah*, Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR, Surabaya.
- Jawetz, E, J.L., Melnick and L.A. Adelberg, 2004, *Mikrobiologi Kedokteran, ed 23* (judul asli: Medical Microbiology), diterjemahkan oleh dr Edi nugroho dan dr RF Maulany, 211, 212-216, CV ECG, Jakarta

- Khaerati Khildah dan Ihwan, 2011, Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apiumgraveolens* L.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan Analisa KLT Bioautografi, *Jurnal Biocelebes*, Vol. 5 No. 1:13-21
- Majidah, D., Fatmawati, D., Gunadi, A., 2014, Daya Anti Bakteri Ekstrak Daun Seledri Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Bahan Alternatif Obat Kumur, *Artikel Ilmiah*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Surabaya
- Mursito B, 2002, *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Jantung*, Penebar Swadaya. Jakarta: Hlm 63-68
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri, 2009, Uji Anti bakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408, *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 5:26-37
- Pratiwi, 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Penerbit Erlangga, Jakarta, Hlm188-190
- Rachmawati, I, 2014, Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Seledri Terhadap Hambatan Pertumbuhan *Candida albicans* secara in vitro, *Jurnal Ilmiah*, Fakultas Kedokteran Gigi UMS, Surakarta
- Syukur dan Hernani, 1999, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Erlangga, Jakarta
- Sudarsono, 1996, *Tumbuhan Obat Tradisional Kekayaan Indonesia* , Pusat Penelitian Obat Tradisional, UGM, Yogyakarta.
- Smith-Keary P. F., 1988, *Genetic Elements in Escherichia coli*, Macmillan Molecular biology series, London
- Sugati dan Johnny, 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Depkes RI, Jakarta, 167.
- Suriawiria U, 1985, *Mikrobiologi Air*, Edisi kedua, Alumni, Bandung
- Satish, 1990, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Volume ke-1,2.Hadiotomo RS, Imas T, Angka SL, Terjemahan dari *Elements of Microbiology*, UI Press, Jakarta
- Tadda, 2010, *Diare Akut disebabkan Bakteri*, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Tanan D.M., Tjitrosantoso H.M., Fatimawali, 2011, Tinjauan Penggunaan Antibiotika Pada Pasien Seksio Sesarea Di BluRsup. Prof. Dr. R. D. Kandou Manado Periode Januari–Desember 2011, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNSRAT, Manado

Widiana R, 2012, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Teh (*Cameliasinensis L.*) Pada *Escherichia coli* dan *Salmonella sp*, *E-journal Pelangi STKIP PGRI Sumbar*

Voigt R, 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soedani Noerrono, Edisi V, Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta. 566-567, 572-573

Zein Umar, Sagala K.H., Ginting J. 2004. *Diare Akut Disebabkan Bakteri*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. e-USU Repository