

**PERBANDINGAN DAYA HAMBAT KONSENTRASI EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*) TERHADAP  
PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus***

**(Skripsi)**

**Oleh:  
BENNY BRADLEY PRADANA PANGARIBUAN**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

**PERBANDINGAN DAYA HAMBAT KONSENTRASI EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*) TERHADAP  
PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus***

Oleh:

**BENNY BRADLEY PRADANA PANGARIBUAN**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada**

**Fakultas Kedokteran  
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

## ABSTRACT

### COMPARISON OF INHIBITION POWER OF THE CONCENTRATION OF ETHANOL EXTRACT OF GREEN BETEL LEAF TO (*Piper betle L.*) THE *Salmonella typhi* AND *Staphylococcus aureus* BACTERIA GROWTH

By

Benny Bradley Pradana Pangaribuan

**Background.** Infection disease is the most important cause of health problems in the world in particular for *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus* infection. Green betel leaf (*Piper betle L.*) has known had function as an antibacteria. This research is aimed to know comparison of ethanol extract of green betel leaf effect to inhibition of growth between *Samonella typhi* and *Staphylococcus aureus* bacteria.

**Methods.** This research used *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus* bacteria which given ethanol extract oh green betel leaf that divided in 7 groups. Negative control uses aquadest (K1), 20 % concentration (K2), 40% concentration (K3), 60% concentration (K4), 80% concentration (K5), 100% concentration (K6), positve control uses ceftriaxon and penicilin G (K7).

**Results.** This research is shown comparison ethanol extract of green betel leaf between both of bacteria that obtained use *Wilcoxon* test that is  $p > 0,05$  at all of group.

**Conclusion.** The conclusion of this research is there is difference of ethanol extract of green betel leaf to inhibition growth between *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* bacteria, but not signifikan in statistic.

**Keyword:** green betel leaf, diameter of inhibition zone, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*

## ABSTRAK

### PERBANDINGAN DAYA HAMBAT KONSENTRASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus*

Oleh

Benny Bradley Pradana Pangaribuan

**Latar Belakang.** Penyakit infeksi merupakan penyebab utama masalah kesehatan diseluruh dunia khususnya untuk infeksi *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) diketahui memiliki khasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengetahui perbandingan pengaruh ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap daya hambat pertumbuhan antara bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

**Metode Penelitian.** Penelitian ini menggunakan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak etanol daun sirih hijau yang dibagi dalam 7 kelompok. Kontrol negatif dengan aquadest (K1), konsentrasi 20% (K2), konsentrasi 40% (K3), konsentrasi 60% (K4), konsentrasi 80% (K5), konsentrasi 100% (K6), dan kontrol positif dengan seftriakson dan penisilin G (K7).

**Hasil Penelitian.** Penelitian ini menunjukkan perbandingan antara pengaruh ekstrak etanol daun sirih hijau pada kedua bakteri yang didapatkan dengan uji *Wilcoxon*, yaitu  $p > 0,05$  pada semua kelompok perlakuan.

**Simpulan Penelitian.** Terdapat perbedaan pengaruh ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri antara *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*, namun secara statistik tidak bermakna

**Kata kunci:** daun sirih hijau, diameter zona hambat, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*.



**Judul Skripsi** : **PERBANDINGAN DAYA HAMBAT  
EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus***

**Nama** : **Benny Bradley Pradana Pangaribuan**

**Nomor Pokok Mahasiswa** : **1318011034**

**Program Studi** : **Pendidikan Dokter**

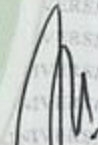
**Fakultas** : **Kedokteran**

**MENYETUJUI**

**Komisi Pembimbing**



**dr. M. Ricky Ramadhian, S.Ked., M.Sc**  
**NIP198306152008121001**



**dr. Tri Umiana, S., S.Ked., M.Kes**  
**NIP. 197609032005012001**

**MENGETAHUI**

**Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA.**  
**NIP 19701208 200112 1001**



**MENGESAHKAN**

1. **Tim Penguji**

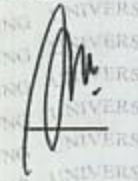
**Ketua**

: **dr. M. Ricky Ramadhian, S.Ked., M.Sc.**



**Sekretaris**

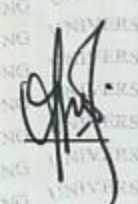
: **dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes.**



**Penguji**

**Bukan Pembimbing**

: **dr. Ety Apriliana, S.Ked., M.Biomed.**



2. **Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA.**

**NIP 197012082001121001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 24 Januari 2017**



## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PERBANDINGAN DAYA HAMBAT KONSENTRASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*”** adalah benar hasil karya penulis, bukan hasil menjiplak atau mengutip atas hasil karya penulis lain.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini jika dikemudian hari ada hal yang melanggar dari ketentuan akademik universitas, maka saya bersedia bertanggung jawab dan diberikan sanksi sesuai dengan seraturan yang berlaku.

Bandar Lampung, Januari 2017

Penulis



Benny Bradley Pradana Pangaribuan

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis lahir di Bandar Lampung pada tanggal 12 Juni 1995, sebagai anak kedua dari lima bersaudara, dari Bapak Romulo Pangaribuan dan Ibu Savera Malau. Penulis memiliki 1 orang kakak bernama Brama Yudha, dan 3 orang adik yaitu Brayon Ingram, Bayu Andre, dan Bogard Royal.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) di TK Fransiskus 1 Tanjung karang tamat pada tahun 2001, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Fransiskus 1 Tanjung karang pada tahun 2007, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Budi Murni 1 Medan pada tahun 2010, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Budi Murni 1 Medan pada tahun 2013. Pada saat SMA penulis sering mengikuti perlombaan pelajaran Fisika dan Bahasa Jepang tingkat SMA se-kota Medan.

Tahun 2013, penulis mengikuti jalur tertulis Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif pada berbagai organisasi, diantaranya Gen-C dan Bada Eksekutif Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.



“Layaknya ilmu padi semakin berisi,  
semakin merunduk”

Sebuah tulisan sederhana untuk Bapak, Mama,  
Abang, Adik, Keluarga besar, dan Semua orang  
yang paling kusayangi

“Maka jadilah kepadamu apa yang kau mau  
Maka berkeinginanlah akan kebaikan  
Karena dirimu ialah apa yang kau pikirkan”

## SANWACANA

Puji dan syukur saya haturkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat karunia-Nya dan bimbingan-Nya lah skripsi ini dapat dikerjakan dan diselesaikan dengan sebaik-baiknya.

Skripsi ini berjudul “Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*” merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak dan Mama yang selalu mendoakan segala yang terbaik untuk anaknya, berjuang dan memberikan semangat, nasihat, perhatian, dan kasih sayang yang tiada hentinya serta harapan agar kelak anaknya menjadi orang yang berhasil dan menjadi dokter yang berguna bagi semua orang. Terimakasih kepada Abang Brama, Iyon, Ari, Bogard, Tulang dan Nantulang Ogi, Bou Kevin, dan seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan dan semangat, setra doa kepada penulis.

Terimakasih kepada Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M. P. selaku Rektor Universitas Lampung dan Dr. dr. Muhartono, M. Kes., Sp. PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Kepada Pembimbing Pertama, dr. M. Ricky Ramadhian, M. Sc terimakasih atas kesediaannya menjadi pembimbing, dengan sabar memberikan dukungan dan arahan dalam penulisan ini. Kepada Pembimbing Kedua, dr. Tri Umiana Soleha, M. Kes terimakasih atas kesediaannya menjadi pembimbing yang tidak hanya membimbing tata cara penulisan, tetapi isi skripsinya juga, memberikan bimbingan yang terlalu sering dengan sabar, dan memberikan dukungan serta semangat. Kepada Pembahas dr. Ety Apriliana, M.Biomed terima kasih atas kesediaannya menjadi pembahas, memberikan nasehat, ilmu, kritik, dan saran untuk kebaikan skripsi penulis. Kepada Prof. Dr. dr. Efrida Wn, M. Kes., Sp. MK selaku pembahas saya sebelumnya, terimakasih atas bimbingan yang pernah diberikan. Kepada seluruh Staf Dosen FK Unila, terima kasih atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan ilmu pengetahuan serta seluruh Staf TU, Administrasi, Akademik FK Unila, dan pegawai yang turut membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Terima kasih kepada sahabat yang selalu ada Neza, tim penelitian (Romana, Satya, dan Atika), sahabat yang selalu membuat semangat (Anam, Gilang, Arif Satria, Restu, Nando, Fuad, Ridho, Teguh, Raju, Benyog, Maldini, Andre, Fedelis, Billy), serta seluruh teman angkatan 2013, Kak Dicky, Kak Veva, Kak Hendra dan semua yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terimakasih atas doa, dukungan, semangat, nasehat,



kesetiaan, hiburan, kegilaan, canda, dan tawa selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, sedikit harapan semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Amin

Bandar Lampung, Januari 2017

Penulis

Benny Bradley Pradana Pangaribuan

## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. <i>Salmonella typhi</i> .....	7
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.3. Daun Sirih Hijau ( <i>Piper betle L.</i> ).....	15
2.4. Antibiotika.....	18
2.5. Kerangka Penelitian .....	20
2.2.1. Kerangka Teori.....	20
2.2.2. Kerangka Konsep .....	21
2.6. Hipotesis.....	22
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Desain Penelitian.....	23
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian .....	24
3.2.1. Tempat Penelitian.....	24
3.2.2. Waktu Penelitian .....	24
3.3. Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian.....	24
3.3.1. Mikroba Uji Penelitian .....	24
3.3.2. Bahan Uji Penelitian.....	24
3.3.3. Media Kultur .....	25
3.4. Identifikasi Variabel.....	25
3.4.1. Variabel Independen.....	25
3.4.2. Variabel Dependen .....	25
3.5. Definisi Operasional.....	26
3.6. Besar Sampel.....	26
3.6.1 Kelompok Perlakuan .....	28

3.6.2	Diagram Alur Penelitian.....	29
3.7.	Prosedur Penelitian.....	30
3.7.1.	Persiapan .....	30
3.7.1.1.	Alat Penelitian.....	30
3.7.1.2.	Bahan Penelitian.....	31
3.7.2.	Sterilisasi Alat .....	31
3.7.3.	Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau.....	31
3.7.4.	Identifikasi Bakteri Uji.....	32
3.7.5.	Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri.....	34
3.7.6.	Teknik Pembuatan Media Agar MHA .....	34
3.7.7.	Uji Diameter Zona Hambat <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella typhi</i> dengan Metode Sumuran.....	35
3.8.	Pengolahan dan Analisis Data.....	36
3.8.1.	Pengolahan Data.....	36
3.8.2.	Analisis Data .....	36
3.8.2.1.	Analisis Univariat.....	36
3.8.2.2.	Analisis Bivariat.....	37
3.9.	<i>Ethical Clearance</i> .....	38
 <b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>		
4.1.	Hasil Penelitian .....	39
4.1.1.	Identifikasi Bakteri Uji.....	39
4.1.2.	Hasil Uji Biokimia Bakteri Uji.....	40
4.1.3.	Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau.....	41
4.2.	Hasil Analisis Data.....	42
4.2.1.	Analisis Deskriptif Perbandingan Zona Hambat Pada <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
4.2.2.	Analisis Univariat.....	43
4.2.3.	Analisis Bivariat.....	44
4.3.	Pembahasan.....	48
 <b>BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN</b>		
5.1.	Simpulan.....	55
5.2.	Saran.....	55
 <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>57</b>
 <b>LAMPIRAN</b>		



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. <i>Salmonella typhi</i> -----	8
Gambar 2. <i>Staphylococcus aureus</i> -----	13
Gambar 3. Daun Sirih ( <i>Piper betle L.</i> )-----	16
Gambar 4. Kerangka Teori -----	21
Gambar 5 Kerangka Konsep-----	21
Gambar 6. Alur Penelitian -----	29

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Definisi Operasional Variabel Dependen dan Independen.....	26
Tabel 2. Kelompok Perlakuan .....	28
Tabel 3. Identifikasi Bakteri Uji .....	39
Tabel 4. Hasil Uji Biokimiawi Bakteri Uji.....	40
Tabel 5. Zona Hambat <i>Salmonella typhi</i> .....	41
Tabel 6. Zona Hambat <i>Staphylococcus aureus</i> .....	41
Tabel 7. Rerata diameter zona hambat <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
Tabel 8. Hasil Analisis Univariat .....	43
Tabel 9. Hasil Uji Normalitas .....	44
Tabel 10. Hasil Uji Homogenitas .....	45
Tabel 11. Hasil Analisis <i>One-Way Anova</i> .....	45
Tabel 12. Hasil Analisis <i>Kruskal-Wallis</i> .....	46
Tabel 13. Hasil Uji <i>Post hoc Bonferroni</i> Diameter Zona Hambat <i>Staphylococcus aureus</i> .....	46
Tabel 14. Hasil Uji <i>Man-Wgitney</i> Diameter Zona Hambat <i>Salmonella typhi</i> .....	46
Tabel 15. Hasil Uji <i>Wilcoxon</i> masing-masing Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Hijau antara Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	47

Tabel 16. Hasil Uji <i>Wilcoxon</i> Diameter Zona Hambat <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	47
Tabel 17. <i>Ranks</i> Hasil Uji <i>Wilcoxon</i> .....	47



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab utama masalah kesehatan di seluruh dunia. Pada negara beriklim tropis seperti Indonesia, penelitian pada bidang kesehatan menunjukkan banyak terdapat penyakit infeksi seperti pada saluran pernafasan dan saluran pencernaan yang banyak disebabkan bakteri Gram positif salah satunya *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif seperti *Salmonella typhi* (Salim, 2016; Indang *et al.*, 2013).

*Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri Gram positif berbentuk bulat yang merupakan bakteri patogen bagi manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi setiap jaringan ataupun alat tubuh dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda khas berupa peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Umumnya *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit yang bersifat sporadik (Inayatullah, 2012).

*Salmonella typhi* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang atau basil, tidak berspora, bergerak dengan flagel peritik, dan dapat tumbuh cepat di media yang sederhana. *Salmonella typhi* merupakan penyebab penyakit demam tifoid. *Salmonella typhi* menyebar secara fekal-oral yang dibawa oleh manusia yang terinfeksi di dalam saluran darah dan saluran pencernaan yang menyebar ke orang lain melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi dengan kotoran yang terinfeksi (Indang *et al.*, 2013).

Penyakit infeksi oleh bakteri umumnya diobati dengan antibiotik. Antibiotik dan obat-obatan sejenisnya disebut sebagai antimikroba yang telah digunakan lebih dari 70 tahun untuk mengobati penyakit infeksi. Antibiotik merupakan senyawa kimia yang berasal dari mikroorganisme hidup yang diperoleh dengan cara sintesis dengan syarat memiliki indeks kemoterapi tinggi pada dosis yang sangat rendah. Menurut cara kerjanya, antibiotik dibagi menjadi kelompok bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan bakteriosidal (mematikan bakteri). Tanpa penggunaan yang efektif dari antibiotik ini, prosedur medis standar akan gagal dan menjadi sangat beresiko. Penjualan obat-obatan antibiotik secara bebas dan ketidaktahuan masyarakat mengenai pengobatan yang rasional akan meningkatkan kejadian resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu. Penyakit infeksi oleh mikroorganisme resisten akan menjadi masalah besar dan mempersulit penyembuhan, serta dapat terjadi peningkatan biaya pengobatan dan meningkatkan resiko kematian (Rahayu, 2011; Indang *et al.*, 2013).

Tingkat kejadian resistensi antibiotik yang meningkat membuat masyarakat beralih menggunakan tanaman sebagai alternatif pengobatan. Salah satu tanaman yang selama ini dikenal memiliki manfaat sebagai antibiotik adalah daun sirih hijau (*Piper betle L.*). Menurut beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun sirih memiliki indeks kemoterapi. Kriteria tanaman sebagai kemoterapi harus memiliki toksisitas rendah terhadap sel inang, inang tidak menjadi alergi terhadap obat, organisme tidak mudah resisten terhadap obat, dan obat harus mencapai tempat infeksi (Inayatullah, 2012; Muhlisah, 2007).

Daun sirih hijau merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia. Bagian yang sering dimanfaatkan adalah daunnya. Daun sirih dipercaya memiliki banyak khasiat untuk mengobati berbagai penyakit yang ada di masyarakat, yaitu sebagai obat sariawan, luka, gatal, mata gatal dan merah, mimisan atau keluarnya darah dari hidung, serta menghilangkan bau badan, bau mulut, jerawat, dan menguatkan gigi agar tidak mudah tanggal. Namun, hanya sedikit yang mengetahui bahwa daun sirih hijau berfungsi sebagai antibiotik (Inayatullah, 2012; Muhlisah, 2007).

Daun sirih mengandung banyak zat kimia, diantaranya seperti minyak atsiri, *hidroksivacikol*, *kavicol*, *kavibetol*, *allypyrokatekol*, *karvakol*, *eugenol*, *eugenol metil eter*, *p-cymene*, *cineole*, *cariophyllene*, *cadinene*, *estragol*, *terpenena*, *sesqiterpena*, *fenil*, *propane*, *tanin*, *diastase*, gula, dan pati. Efek antibiotik daun sirih hijau diperoleh dari kandungan minyak atsiri sebesar 4,2% yang komponen utamanya terdiri dari *bethel phenol*



dan turunannya. *phenol* dan senyawa turunannya dapat mendenaturasi protein sel bakteri. Penelitian mengenai manfaat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang diberikan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difus disk menunjukkan adanya pengaruh terhadap pertumbuhan kedua bakteri ini dengan ditemukannya daerah jernih disekitar disk yang diletakan pada agar. Daerah jernih ini menunjukkan adanya daya hambat pertumbuhan kedua bakteri ini. Pada penelitian Sari dan Isadiartuti (2006) dikatakan bahwa daun sirih hijau pada sediaan gel antiseptik dapat menekan pertumbuhan bakteri sebanyak 50% pada konsentrasi 15%, dan pada konsentrasi 25% menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Hermawan *et al.*, 2007; Inayatullah, 2012; Sari dan Isadiartuti, 2006).

Dari latar belakang ini, maka perlu dilakukan penelitian terhadap ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) untuk menguji aktivitas antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* sekaligus membandingkan daya hambatnya pada kedua bakteri ini.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut, dapat dibentuk pertanyaan penelitian:

1. Apakah terdapat perbedaan bermakna antara daya hambat pertumbuhan bakteri antara *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*)?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1. Tujuan Umum

1. Mengetahui apakah ekstrak daun sirih hijau memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### 2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui perbandingan daya hambat ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui konsentrasi ekstrak daun sirih hijau yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1. Manfaat bagi ilmu pengetahuan

Memberikan informasi ilmiah mengenai perbandingan efektivitas ekstrak daun sirih hijau dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

#### 2. Manfaat bagi masyarakat

Memberikan informasi pada masyarakat mengenai efektivitas ekstrak daun sirih terhadap penyakit infeksi.

3. Manfaat bagi peneliti lain

Sebagai acuan peneliti lain dalam penelitian ekstrak daun sirih hijau sebagai antimikroba dengan bahan lain.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. *Salmonella typhi***

*Salmonella* merupakan bakteri aerobik Gram negatif dengan ciri-ciri mempunyai flagella, tidak berkapsul, tidak berspora, berbentuk batang, tidak memfermentasikan laktosa, dan dapat tumbuh cepat pada media sederhana. Pada *Salmonella typhi* dapat membentuk gas H<sub>2</sub>S dan tidak menghasilkan gas pada fermentasi glukosa. Pada media agar *Wilson Blair*, *Salmonella typhi* tampak membentuk koloni berwarna hitam berkilat, tetapi pada media agar *Salmonella-Shigella (SS)*, *Mc Conkey*, *Endo*, dan *Eosin Metilen-blue (EMB)* koloni berbentuk bulat, kecil, dan tidak berwarna (Pratiwi, 2015).

*Salmonella typhi* hanya menginfeksi manusia dan menyebabkan sakit dan gejala intestinal (demam enterik) atau biasa disebut demam tifoid. Infeksi dapat terjadi jika individu kontak dengan individu yang terinfeksi, atau kontak tak langsung melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri *Salmonella typhi*. Bakteri ini tertelan masuk ke dalam tubuh, masuk ke sistem limfatik dan aliran darah dari usus halus, lalu menimbulkan gejala

berupa demam tinggi, *rose spot* pada kulit, konstipasi, bradikardia, dan kemungkinan perdarahan usus disertai perforasi (Sears *et al.*, 2011).



**Gambar 1.** *Salmonella typhi* perbesaran 1000x (Pratiwi, 2015)

Kedudukan *Salmonella typhi* dalam mikrobiologi (Todar, 2009) :

Kingdom : Eubacteria  
Phylum : Proteobacteria  
Class : Gammaproteobacteria  
Order : Eubacteriales  
Family : Enterobacteriaceae  
Genus : Salmonella  
Species : *Salmonella enterica*  
Subspecies : enterica  
Serotipe : typhi



Demam tifoid adalah penyakit sistemik yang bersifat akut, disebabkan *Salmonella typhi* ditandai dengan demam berkepanjangan, bakteremia tanpa perubahan pada sistem endotel atau endokardial, invasi dan multiplikasi bakteri dalam sel fagosit *mononuklear* pada hati, limpa, nodus limfatikus dan plak peyeri. Demam tifoid merupakan masalah kesehatan yang penting di berbagai negara berkembang, karena penyebarannya berkaitan erat dengan urbanisasi, kepadatan penduduk, kesehatan lingkungan, sumber air dan sanitasi yang buruk serta standar *hygiene* industri pengolahan makanan yang masih rendah (Sucipta, 2015).

Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi*, juga *Salmonella paratyphi* serotipe A, B dan C. Infeksi salmonela atau salmonelosis merupakan penyakit endemis yang banyak dijumpai pada anak, khususnya di Negara beriklim tropis. Di antara salmonelosis, demam tifoid merupakan satu-satunya bentuk infeksi *Salmonella typhi* sistemik sebagai akibat dari bakteriemia yang terjadi (Sucipta, 2015).

Gambaran khas pasien demam tifoid ditandai dengan lesu, anoreksia, sakit kepala, kemudian diikuti oleh demam. Pada waktu ini *Salmonella typhi* sedang menembus dinding usus dan masuk kedalam saluran limfa. Melalui saluran darah, *Salmonella typhi* menyebar kebagian tubuh lain. Insiden kematian berkisar antara 2-10%, lebih dari 3% penderita demam tifoid menjadi karier kronik (Poeloengan *et al.*, 2005).

Berdasarkan investigasi dari CDC diperkirakan 21,6 juta kasus demam tifoid dengan insiden bervariasi dari 100-1000 per 100.000 populasi. Data *World Health Organization* (WHO) tahun 2003 memperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun. Di negara berkembang, kasus demam tifoid dilaporkan sebagai penyakit endemis dimana 95% merupakan kasus rawat jalan sehingga insidensi yang sebenarnya adalah 15-25 kali lebih besar dari laporan rawat inap di rumah sakit. Di Indonesia kasus ini tersebar secara merata di seluruh propinsi dengan insidensi di daerah pedesaan 358/100.000 penduduk/tahun dan di daerah perkotaan 760/100.000 penduduk/ tahun atau sekitar 600.000 dan 1.5 juta kasus per tahun. Umur penderita yang terkena di Indonesia dilaporkan antara 3-19 tahun pada 91% kasus (Sucipta, 2015).

Tindakan yang cepat diperlukan pada salmonellosis dalam stadium septikemia, meskipun perlu diingat adanya kontroversi penggunaan antimikroba pada kasus-kasus salmonellosis alat pencernaan, karena antibiotik peroral akan merusak mikroflora usus. Disamping itu ada bakteri salmonella yang menjadi resisten terhadap antibiotik yang dipakai yang kemudian sangat berbahaya kalau menulari manusia. Septikemia sebaiknya diatasi dengan antibiotik spektrum luas yang diberikan per parental (Poeloengan *et al.*, 2005).

Kloramfenikol adalah antibiotik pilihan yang tepat untuk mengobati septikemia, tetapi telah menghasilkan strain-strain yang resisten. Oleh

karena itu uji kepekaan antibiotik perlu dilakukan. Ampisillin dan trimethoprim sulfamethoxazole kini digunakan. Untuk gastroenteritis, yang paling penting dilakukan ialah penggantian cairan dan elektrolit yang hilang (Poeloengan *et al.*, 2005).

Penggunaan antibiotik Kloramfenikol yang tidak rasional dilaporkan sudah mengalami MDRST (*Multi Drug Resistant Salmonella typhi*). Pemberian siprofloksasin dan seftriakson lebih direkomendasikan untuk kasus MDRST, namun karena efek samping siprofloksasin yang salah satunya berupa artropati maka penggunaan seftriakson lebih direkomendasikan (Sidabutar dan Satari, 2010).

## 2.2. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif anaerobik fakultatif yang berbentuk *coccus* (bulat) sering juga disebut “*staph emas*”, memiliki ukuran 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tumbuh optimal pada suhu 37°C dan tersusun dalam bentuk bergerombol dan tidak teratur seperti anggur dan memiliki warna emas pada agar darah. *Staphylococcus aureus* dapat bertambah dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat, dan menghasilkan berbagai pigmen warna seperti warna putih hingga kuning gelap (Jawetz *et al.*, 2012; Brooks *et al.*, 2007).

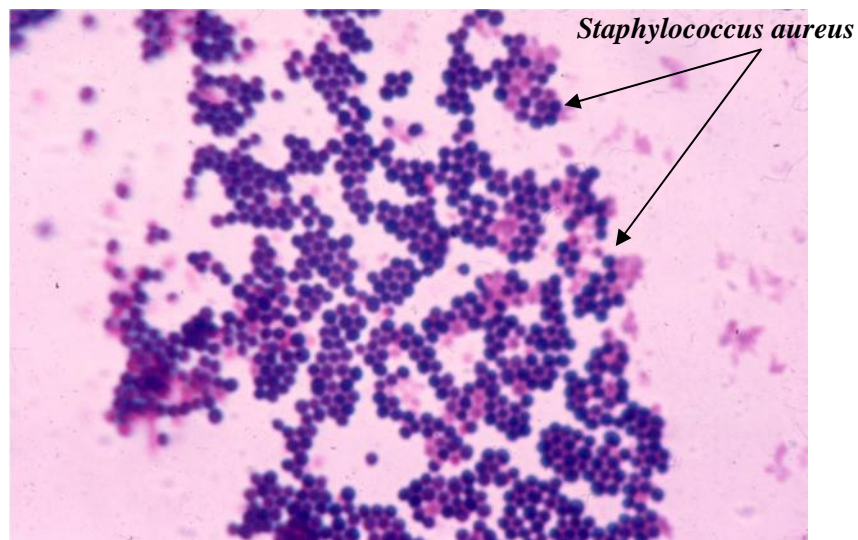
*Staphylococcus aureus* berkembang biak dengan cara pembelahan biner, dimana dua anakan sel tidak terpisah secara sempurna sehingga terlihat

seperti membentuk koloni kluster seperti anggur. *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit sehat dan dapat menjadi patogen pada jaringan kulit yang terbuka. *Staphylococcus aureus* hidup sebagai saprofit didalam saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia seperti hidung, mulut, dan tenggorokan, dan dapat dikeluarkan pada saat batuk atau bersin. *Staphylococcus aureus* juga terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit kelenjar keringat dan saluran usus (Brooks *et al.*, 2007).

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah, dan yang paling sering ditemukan adalah furunkel pada kulit dan impetigo. Infeksi pada daerah superfisial dapat menyebar ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomielitis, artritis, endokarditis, dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar mammae. *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan pneumonia yang merupakan infeksi sekunder dari virus influenza. *Staphylococcus aureus* paling sering mengkontaminasi luka paska bedah sehingga menimbulkan komplikasi (Welsh *et al.*, 2010).

*Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan baik pada media bakteriologi dengan suasana aerobik atau mikroaerofilik dan pada suhu 20-35°C. Pada media biakan, akan terlihat koloni berbentuk bulat dan mengkilat. *Staphylococcus aureus* memiliki 4 karakteristik, yaitu faktor virulensi yang menyebabkan penyakit yang berat pada individu normal, faktor diferensiasi yang menyebabkan penyakit berbeda pada sisi atau tempat berbeda, faktor persisten bakteri pada lingkungan dan individu yang merupakan karier, dan

faktor resistensi terhadap berbagai antibiotik. *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksidase menjadi air dan oksigen (Jawetz *et al.*, 2012).



**Gambar 2.** *Staphylococcus aureus* perbesaran 1000x (Todar, 2009)

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dalam mikrobiologi (Salim, 2016) :

Kingdom : Eubacteria  
Phylum : Firmicutes  
Class : Coccus  
Order : Bacillales  
Family : Staphylococcaceae  
Genus : Staphylococcus  
Species : *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan

berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin, yaitu (Garzoni dan Kelley, 2009; Brooks *et al.*, 2007; Gordon dan Lowy, 2008; Otto, 2012):

- a. *Katalase*, enzim yang mengkatalisir perubahan  $H_2O_2$  menjadi air dan oksigen dan berperan dalam daya tahan terhadap fagositosis.
- b. *Koagulase*, enzim ini dapat membekukan plasma oksalat atau plasma sitrat bila di dalamnya terdapat faktor-faktor pembekuan. Koagulase ini menyebabkan terjadinya deposit fibrin pada permukaan sel yang menghambat fagositosis.
- c. Enzim-enzim yang lain, seperti *hialuronidase* satu faktor penyebaran, *stafilokinase* yang menyebabkan fibrinolisis, *proteinase* yang memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana seperti oligopeptida pendek atau asam amino, dan *beta-laktamase* yang menghidrolisis cincin *beta-laktam* dari antibiotik penisilin dan sefalosporin.
- d. *Eksotoksin*, yang bisa menyebabkan nekrosis kulit
- e. *Lekosidin*, yang dihasilkan *Staphylococcus* menyebabkan infeksi rekuren, karena leukosidin menyebabkan Stafilokokus berkembang biak secara intraselular.
- f. Toksin eksfoliatif, yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* terdiri dua protein yang menyebabkan deskuamasi kulit yang luas.
- g. Toksin penyebab sindroma renjatan toksin, (*Staphylococcus toxic shock syndrome*) yang menyebabkan sindroma syok toksik.

- h. Enterotoksin, dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang berkembang biak pada makanan, toksin ini tahan panas, dan bila tertelan oleh manusia bersama makanan, akan menyebabkan gejala muntah berak (keracunan makanan).

*Staphylococcus aureus* dapat diobati dengan menggunakan antibiotik lini pertama seperti ampisilin. Pada infeksi yang cukup berat seperti sindroma renjatan toksis, diberikan antibiotik oral atau intravena seperti penisilin, matisilin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rifampisin. Sebagian besar *Staphylococcus aureus* sudah resisten pada antibiotik yang disebutkan tadi, oleh karena itu perlu diberikan antibiotik berspektrum luas seperti kloramfenikol, amoksisilin, dan tetrasiklin (Brooks *et al.*, 2007; Miller dan Kaplan, 2009).

### **2.3. Daun Sirih Hijau**

Sirih (*Piper betle* Linn) merupakan salah satu tanaman terna memanjat yang masuk kedalam famili Piperaceae. Sirih biasa tumbuh di daerah tropis pada ketinggian 300-1000 m diatas permukaan laut (dpl), terutama pada daerah yang mengandung bahan organik dan air. Tinggi tanaman bisa mencapai 15 m. Batang berwarna coklat kehijauan, bulat, berkerut, dan beruas. Daun bentuk jantung, berwarna kuning kehijauan sampai hijau tua, panjang 6-17,5 cm dan lebar 3,5-10 cm, ujung runcing, tumbuh selang-seling, bertangkai, tekstur agak kasar, dan mengeluarkan bau yang sedap (aromatis) jika diremas. Buah terletak buni atau tersembunyi, bentuknya bulat, berdaging,



berwarna kuning kehijauan hingga hijau keabuan. Akarnya tunggang berbentuk bulat dan berwarna coklat kekuningan (Moeljanto, 2003).



**Gambar 3.** Daun Sirih (*Piper betle L.*) (Moeljanto, 2003)

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari daun sirih adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Divisio : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Ordo : Piperales  
Family : Piperaceae  
Genus : Piper  
Species : *Piper betle*

Menurut bentuk daun, rasa, dan aroma, sirih dibedakan menjadi beberapa jenis diantaranya sirih jawa, sirih banda, sirih cengkih, dan sirih hitam atau sirih keling. Sirih Jawa ditemukan di Jawa dan Maluku, daun sirih Jawa berwarna hijau tua dan rasanya tidak begitu tajam. Sirih Banda banyak tumbuh di Banda, Seram, dan Ambon. Sirih Banda daunnya besar, berwarna hijau tua dan kuning di beberapa bagian, rasa serta aroma atau baunya sengak. Sirih cengkih berdaun kecil, berwarna kuning, dan rasanya tajam menyerupai rasa cengkih. Sirih hitam rasanya sangat sengak, biasanya digunakan untuk campuran obat (Moeljanto, 2003).

Tanaman sirih mengandung banyak zat kimia, diantaranya seperti minyak atsiri, *hidroksivacikol*, *kavicol*, *kavibetol*, *allypyrokatekol*, *karvakol*, *eugenol*, *eugenol metil eter*, *p-cymene*, *cineole*, *cariophyllene*, *cadinene*, *estragol*, *terpenena*, *sesqiterpena*, *fenil*, *propane*, *tanin*, diastase, gula, dan pati (Muhlisah, 2007).

Daun sirih memiliki khasiat untuk mengobati berbagai penyakit yang ada di masyarakat, diantaranya sebagai obat sariawan, koreng atau gatal, mata gatal dan merah, mimisan atau keluarnya darah dari hidung, menghilangkan bau badan dan bau mulut, mengurangi jerawat, dan menguatkan gigi agar tidak mudah tanggal. Khasiat ini didapat dari daun sirih dengan cara pengolahan atau konsumsi tertentu, sudah dipercaya dan terbukti di masyarakat (Muhlisah, 2007).

## 2.4. Antibiotika

Antimikroba adalah suatu senyawa atau agen yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme dan terutama mikroorganisme patogen manusia. Agen senyawa antimikroba dapat digolongkan menurut jasad renik yang dibasmi, yaitu antibiotik, antivirus, antifungi, antiprotozoa, dan antihelminthes. Antimikroba juga dibagi menjadi dua kelompok luas, yaitu golongan bakteriostatik yang menghambat replikasi mikroba, dan golongan bakterisidal yang secara bekerja secara utama membunuh mikroba. Antibiotik adalah salah satu jenis antimikroba yang digunakan untuk mengobati atau mencegah infeksi bakteri (Syarif *et al.*, 2012; Bennet *et al.*, 2012).

Antibiotik dapat dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan mekanisme kerjanya. Kelompok tersebut adalah sebagai berikut (Bennet *et al.*, 2012; Syarif *et al.*, 2012):

1. Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, sefamisin dan  $\beta$ -laktam lain seperti karbapenem, monobaktam, vankomisin, teikoplanin dan  $\beta$ -laktamase. Antibiotik golongan ini akan menghambat reaksi pembentukan peptidoglikan yang berfungsi sebagai dinding sel bakteri. Oleh karena hal tersebut, tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel sehingga merusak dinding sel kuman yang menyebabkan lisis.

2. Antibiotik yang menghambat sintesis protein bakteri

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah aminoglikosida, makrolid, tetrasiklin, kloramfenikol, linezolid dan linkomisin. Antibiotik ini akan mengganggu pembentukan protein pada ribosom dengan cara berikatan pada ribosom 30S atau 50S. Ikatan pada ribosom 30S atau 50S ini menyebabkan tidak terbentuknya ribosom 70S yang fungsional.

3. Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat

Contoh obatnya adalah Sulfonamid, Kuinolon, Rifampisin, Trimetoprim, golongan azol, dan Sulfon. Obat golongan obat ini menginterupsi pembentukan asam folat sehingga mengganggu kehidupan bakteri.

4. Antibiotik yang menghambat metabolisme sel mikroba

Contohnya adalah sulfonamid, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS), dan sulfon. Efek kerjanya adalah bakteriostatik, dengan mekanisme kompetitor dengan PABA (asam amino benzoat) yang akan membentuk asam folat untuk kelangsungan hidup bakteri.

5. Antibiotik yang mengganggu keutuhan sel membran

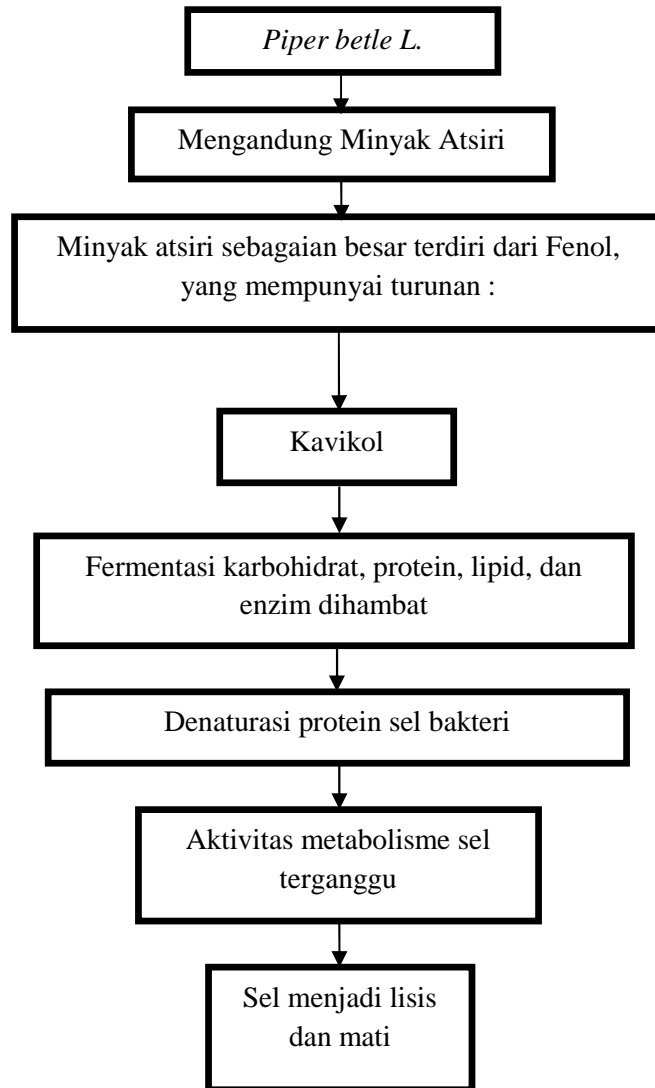
Obat yang termasuk golongan ini adalah polimiksisin, golongan polien serta berbagai antibiotik kemoterapeutik seperti antiseptik *surface active agent*. Mekanisme kerjanya adalah merusak membran sel dengan cara bereaksi dengan fosfat dan fosfolipid membran sel bakteri, akibatnya permeabilitas selektif membran sel rusak,

komponen penting keluar dari dalam sel bakteri, seperti protein, asam nukleat, nukleotida, dll.

## **2.5. Kerangka Penelitian**

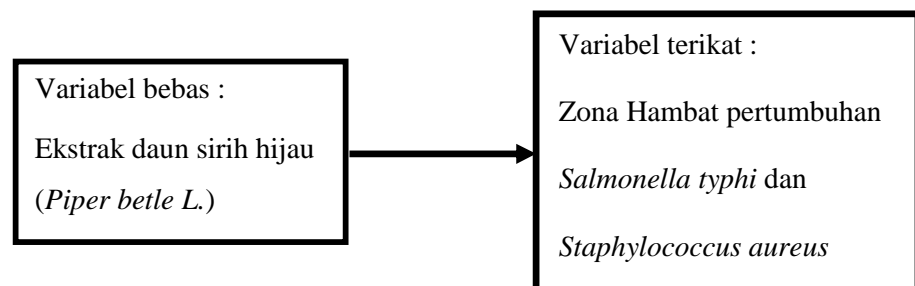
### **2.5.1. Kerangka Teori**

Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) mengandung sebanyak 4,2% minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari *Cavicol Paraaluphenol* dan *Chavica betel*. Daya antibakteri daun sirih hijau (*Piper betle L.*) disebabkan oleh kandungan fenol dan turunannya seperti kavikol dan kavibetol. Kavikol memiliki daya bakterisida lima kali lebih kuat dibandingkan senyawa fenol lainnya. Kavikol akan menghambat fermentasi karbohidarat, protein, lipid dan enzim akan menyebabkan protein tidak dapat melakukan fungsinya. Sel terganggu dan akhirnya akan menyebabkan sel lisis dan mati (Kusuma, 2010; Sendy, 2014; Inayatullah, 2012; Putri, 2010; Harlis dan Wahyuni, 2008; Hermawan *et al.*, 2007; Ngaisah 2010).



**Gambar 4.** Kerangka Teori

### 2.5.2. Kerangka Konsep



**Gambar 5.** Kerangka Konsep

## 2.6. Hipotesis

H1 : Terdapat perbedaan bermakna pengaruh ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L) daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

Ho : Tidak ada perbedaan bermakna pengaruh ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L) daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Desain Penelitian**

Penelitian yang dilakukan ini bersifat analitik laboratorik dengan menggunakan desain penelitian observasional perbandingan satu kelompok statis (*static group comparison*) dimana terdapat dua kelompok yang dipilih sebagai objek penelitian, yang satu mendapatkan perlakuan dan yang satunya tidak mendapatkan perlakuan (berfungsi sebagai pembanding/kontrol) (Notoadmodjo, 2010). Rancangan penelitian ini berusaha meneliti efek dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) terhadap diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode sumuran, yaitu dengan cara membuat lubang (sumuran) dengan diameter 6 mm pada media nutrient agar yang sudah tercampur dengan bakteri uji sebanyak 1 ml setiap cawan, setiap cawan dibuat 4 sumuran, kemudian pada setiap sumuran dimasukan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dengan konsentrasi yang berbeda-beda sebanyak 50 µl (Ainurrochmah *et al.*, 2013).

## **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

### **3.2.1. Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

### **3.2.2. Waktu Penelitian**

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan Desember 2016.

## **3.3. Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian**

### **3.3.1. Mikroba Uji Penelitian**

Dalam penelitian yang dilakkan digunakan beberapa mikroba uji, diantaranya adalah bakteri Gram positif (+) yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif (-) yaitu *Salmonella typhi*. Kedua bakteri ini akan diperoleh dari UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Bandar Lampung.

### **3.3.2. Bahan Uji Penelitian**

Penelitian ini menggunakan daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang siap panen yang sudah berumur satu tahun dengan cara memetik daunnya dari samping. Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) akan diperoleh dari pohon sirih di rumah salah satu warga yang berlokasi di kota Bandar Lampung. Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) akan dibersihkan dan dikeringkan selama 3-5 hari, kemudian daun sirih

hijau (*Piper betle L.*) akan diekstrak di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

### **3.3.3. Media Kultur**

Media kultur yang digunakan pada penelitian ini ada 2, yaitu lempeng agar darah yang digunakan untuk membiakan bakteri Gram positif (+) *Staphylococcus aureus* dan lempeng agar *Mac-Conkey* yang digunakan untuk membiakan bakteri Gram negatif (-) *Salmonella typhi*. Setelah dilakukan kultur, digunakan media agar MHA (*Muller Hinton Agar*) sebagai media uji diameter zona hambat bakteri.

## **3.4. Identifikasi Variabel**

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variabel yang dibagi ke dalam beberapa bagian, yaitu variabel independen dan dependen.

### **3.4.1. Variabel Independen**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dalam berbagai tingkat konsentrasi (20%, 40%, 60%, 80%, 100%).

### **3.4.2. Variabel Dependen**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

### 3.5. Definisi Operasional

**Tabel 1.** Definisi Operasional Variabel Dependen dan Independen

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Ekstrak etanol daun sirih hijau ( <i>Piper betle L.</i> )	Suatu zat yang diperoleh dari ekstraksi dengan menggunakan etanol daun sirih hijau menjadi cairan yang mengandung minyak atsiri daun sirih hijau melalui proses mekanik dan kimiawi.	Menggunakan persamaan ; $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$ Keterangan $N_1$ = konsentrasi awal $V_1$ = volume awal $N_2$ = konsentrasi akhir $V_2$ = Volume akhir	Ekstrak daun sirih hijau dengan kadar dan volume yang diinginkan	Ordinal
2.	Daya hambat pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	Pertumbuhan bakteri yang terbentuk setelah variabel independen dan kontrol positif serta negatif diberikan dengan menggunakan metode sumuran.	Menggunakan jangka sorong untuk mengukur zona hambat	Zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)	Numerik

### 3.6. Besar Sampel

Dalam penelitian ini akan dilakukan pemberian berbagai kadar ekstrak temulawak yang akan diuji, yaitu pada kadar 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, serta dengan seftriakson dan penisilin G sebagai kontrol positif, dan akuades sebagai kontrol negatif yang akan diberikan untuk mempengaruhi pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Untuk

menentukan banyaknya pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini digunakan rumus Federer (Sastroasmoro, 1995):

$$(n-1)(k-1) = 15$$

$$(n-1)(7-1) = 15$$

$$(n-1)6 = 15$$

$$6n - 6 = 15$$

$$6n = 21$$

$$n = 3,5$$

Keterangan :

n = banyaknya sampel (pengulangan)

k = banyaknya perlakuan

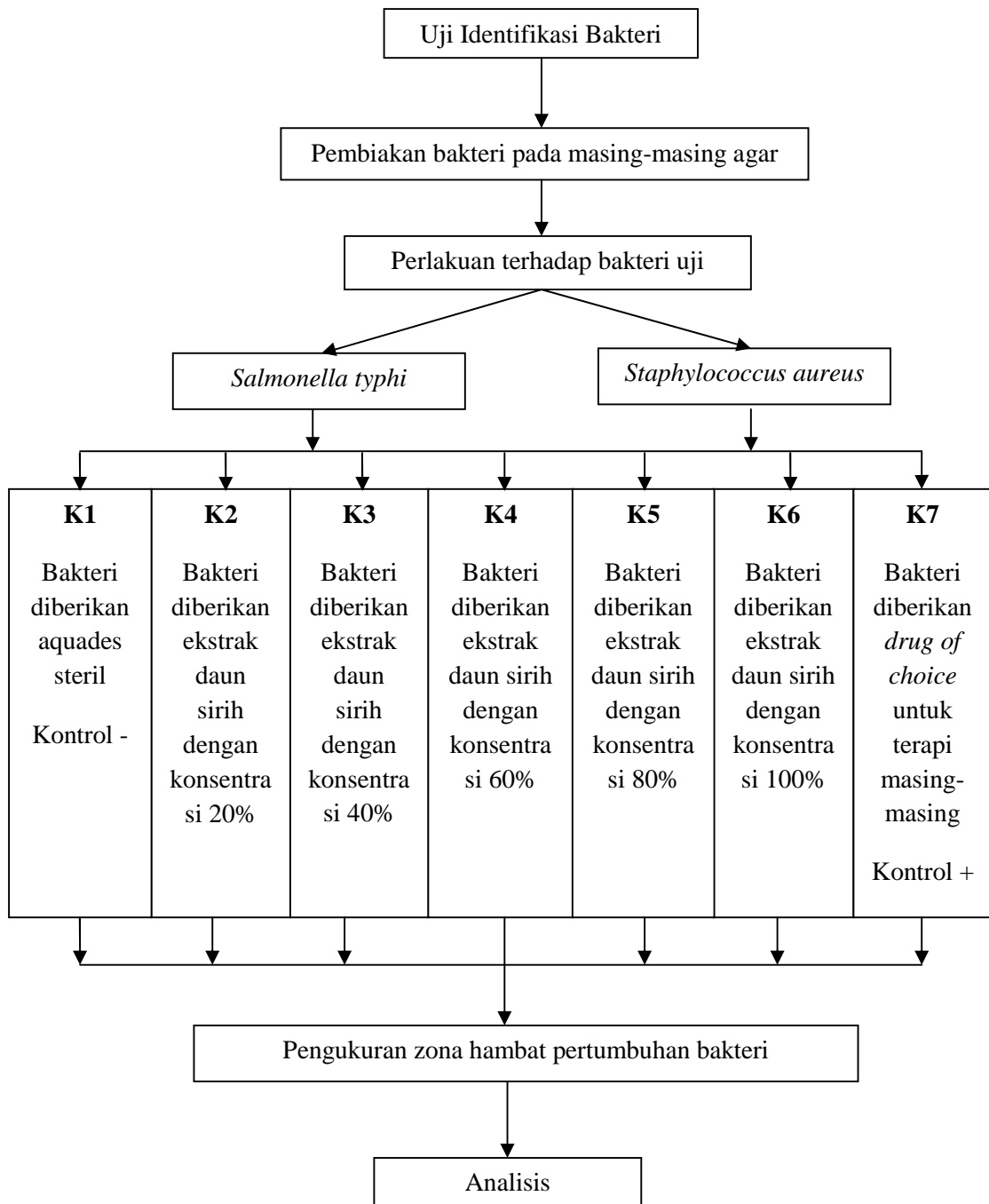
Berdasarkan hasil perhitungan dengan menggunakan rumus Federer diatas maka besar sampel yang digunakan adalah lebih dari sama dengan 3,5. Untuk menghindari terjadinya kesalahan, maka banyak sampel dibulatkan keatas menjadi 4. Besar sampel ini akan digunakan sebagai acuan dilakukannya pengulangan perlakuan pada penelitian ini. Setiap pengulangan dilakukan pada masing-masing konsentrasi dan kontrol, sehingga ada 28 kali perlakuan kepada tiap bakteri, maka total perlakuan pada penelitian ini adalah 56 perlakuan.

### 3.6.1. Kelompok Perlakuan

**Tabel 2.** Kelompok Perlakuan

No	Kelompok	Perlakuan
1.	Kelompok1 (K1)	Kelompok bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan aquades steril. Kontrol negatif
2.	Kelompok 2 (K2)	Kelompok bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) dengan konsentrasi sebesar 20%.
3.	Kelompok 3 (K3)	Kelompok bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) dengan konsentrasi sebesar 40%.
4.	Kelompok 4 (K4)	Kelompok bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) dengan konsentrasi sebesar 60%.
5.	Kelompok 5 (K5)	Kelompok bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) dengan konsentrasi sebesar 80%.
6.	Kelompok 6 (K6)	Kelompok bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) dengan konsentrasi sebesar 100%.
7.	Kelompok 7 (K7)	Kelompok bakteri <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan Seftriakson (untuk Gram negatif) dan Penisilin G (untuk Gram positif). Kontrol positif

### 3.6.2. Diagram Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

### **3.7. Prosedur Penelitian**

Penelitian yang dilakukan ini bersifat analitik laboratorik. Dalam penelitian ini, ekstrak daun sirih hijau diencerkan untuk membuat berbagai macam konsentrasi yang diinginkan didalam tabung reaksi. Setelah terbentuk konsentrasi yang diinginkan, ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dimasukan kedalam sumuran yang telah dibuat, lalu kemudian diamati zona hambat dari pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini akan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

#### **3.7.1. Persiapan**

##### **3.7.1.1. Alat Penelitian**

1. Rak dan tabung reaksi
2. Ose
3. Beker glass
4. Pipet
5. Kapas alkohol
6. Cawan Petri
7. Alat pengaduk
8. Autoclave
9. Inkubator



### 3.7.1.2. Bahan Penelitian

1. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang diperoleh dari ekstraksi daun sirih hijau. Proses pengekstrakan dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
2. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Bakteri diperoleh dari UPTD Balai Laboratorium Klinik Bandar Lampung.
3. Media agar nutrient agar, lempeng agar darah, *Mac-Conkey*, dan MHA (*Muller Hinton Agar*).
4. Aquades steril.

### 3.7.2. Sterilisasi Alat

Mensterilisasi alat dan bahan penelitian, kecuali ekstrak temulawak dan suspensi kuman, agar bebas dari pengaruh mikroorganisme lain yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian. Sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Alat-alat ditunggu sampai mencapai suhu kamar dan kering.

### 3.7.3. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau dicuci bersih lalu diangin-anginkan, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai kering, kemudian diremas dan dihaluskan sampai menjadi serbuk menggunakan

blender. Ekstrak daun sirih didapatkan dengan menghaluskan 200 gram daun sirih hijau muda, lalu dimaserasi dengan 2L etanol, selanjutnya disaring untuk diambil filtratnya. Hasil penyaringan dimasukan kedalam *rotary evaporator* dengan suhu 40°C untuk menguapkan bahan pelarut ekstrak, sehingga didapatkan larutan aktif yang pekat, berwarna coklat, dengan bau khas aromatik (larutan stok). Larutan stok ini diencerkan dengan akuades untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

#### **3.7.4. Identifikasi Bakteri Uji**

Identifikasi bakteri uji dilakukan dengan pewarnaan dan tes biokimiawi sebagai berikut:

1. Pewarnaan Gram
2. Tes Biokimiawi Bakteri Gram Positif
  - a. Uji Katalase

Dilakukan tes katalase untuk membedakan *Staphylococcus sp.* dengan *Streptococcus sp.* Dengan cara meneteskan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada koloni bakteri yang diambil menggunakan ose dan dipindahkan ke kaca objek. Hasil positif jika terbentuk busa, menandakan *Staphylococcus sp.* Hasil negatif apabila tidak terdapat busa, menandakan *Streptococcus sp.*

b. Uji Koagulase

Dalam tes koagulase suspensi bakteri dicampur dengan plasma kelinci baik pada slide maupun pada tabung. Fibrinogen pada plasma kelinci diubah menjadi fibrin oleh enzim koagulase. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gumpalan. Koagulase merupakan cara sederhana untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* dilaboratorium klinis mikrobiologi.

3. Tes Biokimiawi Bakteri Gram Negatif

a. Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Melihat kemampuan bakteri untuk memfermentasikan gula, menghasilkan gas, dan menghasilkan sulfur. Agar ini mengandung 3 jenis gula, yaitu glukosa, laktosa, sakarosa. Hasil positif yang menandakan bakteri memfermentasikan gula adalah terjadi perubahan warna dasar menjadi kuning. Jika bakteri menghasilkan gas, hasil positif berupa terbentuknya gelembung udara dibagian dasar. Hasil positif yang menandakan bakteri menghasilkan H<sub>2</sub>S adalah perubahan warna kehitaman pada goresan.

b. Uji *Simmon's Citrat Agar*

Melihat kemampuan suatu bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber utama metabolisme dan pertumbuhan. Positif bila warna berubah menjadi biru

yang artinya timbul warna asam. Hasil negatif bila tidak terjadi perubahan menjadi warna biru.

c. Uji SIM (*Sulfid Indol Motility*)

Tujuan uji ini untuk melihat pergerakan bakteri. Hasil positif jika ada pertumbuhan bakteri disekitar tusukan dengan ose dan menyebar pada media SIM tersebut.

### 3.7.5. Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri strain murni *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dibuat suspensi dengan memasukkannya ke *nutrient broth* untuk mendapatkan bakteri sebanyak  $10^8$  CFU/ml. Kemudian suspensi bakteri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam.

### 3.7.6. Teknik Pembuatan Media Agar MHA (*Muller Hinton Agar*)

Menimbang 9,5 gram *Muller Hinton Agar* (MHA) 38 gr/l dengan komposisi medium (*Beef infusion* 300 gram, *Casamino acid* 17,5 gram, *Starch* 1,5 gram, dan agar), kemudian melarutkan dalam 250 ml akuades lalu dipanaskan sampai mendidih, kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan tekanan udara 1 atm suhu  $121^{\circ}\text{C}$ . Media MHA yang sudah steril, didiamkan sampai kisaran suhu  $50-60^{\circ}\text{C}$ , kemudian secara aseptis dicampurkan kultur bakteri *Salmonella typhi* (Media I) dan *Staphylococcus aureus* (Media II) uji dengan perbandingan 1:10 (bakteri : media). Media yang sudah bercampur bakteri uji dituang kedalam kedalam cawan petri steril

masing-masing 20 ml dan dibiarkan memadat. Media padat yang bercampur bakteri uji, dibuat sumuran dengan menggunakan sedotan steril dengan diameter 6 mm.

### **3.7.7. Uji Diameter Zona Hambat *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan Metode Sumuran**

1. Dimasukkan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% pada sumuran yang telah dibuat dengan diameter 6 mm pada media I dan II dengan jarak  $\pm$  15 mm sebanyak masing-masing 50  $\mu$ l. (Ainurrochmah *et al.*, 2013)
2. Sebagai kontrol positif digunakan Seftriakson untuk bakteri *Salmonella typhi* dan Penisilin G untuk bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 50  $\mu$ l.
3. Sebagai kontrol negatif, digunakan aquades steril yang dimasukan kedalam sumuran sebanyak 50  $\mu$ l.
4. Kedua media lalu diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24 jam.
5. Diukur zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong.
6. Prosedur diatas dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

### **3.8. Pengolahan dan Analisis Data**

#### **3.8.1. Pengolahan Data**

Data yang diperoleh kemudian diubah ke dalam bentuk tabel, kemudian data diolah menggunakan program *IBM SPSS Statistic 23 for Windows* = 0,05. Proses pengolahan data menggunakan program komputer terdiri dari beberapa langkah, diantaranya;

1. *Editing*, kegiatan ini berupa pengecekan dan perbaikan data yang menunjang penelitian.
2. *Coding*, mengkonversikan (menerjemahkan) data yang dikumpulkan selama penelitian ke dalam simbol yang sesuai untuk keperluan analisis.
3. *Data entry*, memasukan data kedalam program komputer.
4. *Cleaning*, pengecekan ulang data dari setiap sumber data atau responden untuk melihat kemungkinan adanya kesalahan kode, ketidaklengkapan, dan kemudian dilakukan koreksi.

#### **3.8.2. Analisis Data**

##### **3.8.2.1. Analisis Univariat**

Analisis univariat bertujuan menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik tiap variabel penelitian. Untuk data numerik digunakan nilai mean atau rata-rata, median, dan standar deviasi. Pada umumnya dalam analisis ini hanya menghasilkan distribusi/persebaran dari data yang diperoleh.

### 3.8.2.2. Analisis Bivariat

Besar sampel penelitian ini  $< 50$ , maka digunakan uji *Shapiro-wilk* untuk menguji normalitas data. Distribusi data normal jika  $p > 0,05$  dan jika  $p < 0,05$  distribusi data tidak normal. Analisis ini digunakan untuk menganalisis variabel independen dan dependen, yaitu untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan luas zona daya hambat pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Uji statistik yang digunakan adalah Anova satu arah (*one way Anova*) dilanjutkan dengan *Posthoc*. Lalu untuk membandingkan pengaruh zona hambat antara *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* digunakan uji T-test tidak berpasangan. Interpretasi uji statistik ini, yaitu;

1. Bila  $p < (0,05)$  maka hasil bermakna/signifikan, artinya terdapat hubungan bermakna antara variabel independen dan dependen, atau hipotesis penelitian diterima.
2. Bila  $p > (0,05)$  maka hal ini berarti dua sampel yang diteliti tidak mendukung adanya perbedaan yang bermakna dan tidak ada pengaruh variabel independen terhadap dependen, atau hipotesis penelitian ditolak.
3. Namun jika data penelitian tidak normal, untuk *One-way Anova* digunakan uji alternatif *Kruskal-Wallis*

dilanjutkan dengan *Mann-Whitney* dan untuk T-tes tidak berpasangan digunakan uji alternatif *Wilcoxon*.

### **3.9. *Ethical Clearance***

Penelitian ini sudah diajukan dan disetujui oleh bagian *Ethical Clearance* dari Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 049/UN26.8/DL/2016.



## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Simpulan**

Berikut ini adalah simpulan yang didapatkan dari penelitian ini:

1. Ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Terdapat perbedaan tetapi tidak bermakna secara statistik antara diameter zona hambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*).
3. Zona hambat minimal bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* terbentuk pada konsentrasi 20% ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*).

#### **5.2. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) terhadap bakteri

*Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode lainnya.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap bakteri gram positif dan negatif lainnya mengenai efek ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*).
3. Untuk penelitian lebih lanjut dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi* atau *Staphylococcus aureus* lebih baik menggunakan ekstrak dari daun lain.
4. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan pelarut yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ainurrochmah A, Ratnasari E, Lisdiana L, 2012. Efektivitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. *Jurnal LenteraBio*, 2(3): 233–237.
- Ariyanti NK, Darmayasa IBG, Sudirga SK, 2012. Daya hambat ekstrak kulit daun lidah buaya (*Aloe barbadensis Miler*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Bennet P, Brown M, Sharma P, 2012. *Clinical Pharmacology*. London: Elsevier
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, 2007. *Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology*. London: McGraw-Hill Medical.
- Cita, Y. P, 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan demam tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* September - Maret 2011. 6(1): 42–46.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta.
- Dicky A, 2016. Perbandingan efek pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Garzoni C, Kelley WL, 2009. *Staphylococcus aureus*: New evidence for intracellular persistence. *Trends in Microbiology*. 2(17): 59-65
- Gordon RJ, Lowy FD, 2008. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases*. 46(5): 350–9.
- Harlis, Wahyuni I, 2008. Pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans*. *Jurnal Ilmiah Pannmed*. 1(1): 11-14.

- Hermawan A, Eliyani H, Tyasningsih W, 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Disk. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Inayatullah S, 2012. Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatulah.
- Iriano A, 2008. Pengaruh ekstrak tanaman lidah buaya, sirih, dan sereh terhadap perkembangan *Porphyromonas gingivalis* in vitro (perbandingan metode ekstraksi maserasi dan infundasi). Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Indang N, Guli MM, Alwi M, 2013. Uji Resistensi dan Sensitivitas Bakteri *Salmonella thypi* Pada Orang Yang Sudah Pernah Menderita Demam Tifoid Terhadap Antibiotik. Jurnal Biocelebes. 7(1): 27–34.
- Jawetz, Melnick, Adelberg, 2012. Jawetz, Melnick, and Adelberg's medical Microbiology Edisi 25. Jakarta.
- Kusuma RBBE, 2010. Pengaruh daya antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Mickel AK, Sharma P, Chogle S, 2003. Effectiveness of stannous fluoride and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*. J. Endod. 29(4): 256-60.
- Miller LG, Kaplan SL, 2009. *Staphylococcus aureus*: A Community Pathogen. Infectious Disease Clinics of North America. 1(23): 35-52.
- Moeljanto RD, 2003. Khasiat dan Manfaat Daun Sirih: Obat mujarab dari Masa ke Masa. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Muhlisah F, 2007. Tanaman Obat Keluarga (Toga). Penebar Swadaya: Jakarta
- Mujahid R., Nita, S. 2008. Maserasi Sebagai Alternatif Ekstraksi Pada Penetapan Kadar Kurkuminoid Simplisia Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), 18–23. Diakses pada: <http://publikasiilmiah.unwahas.ac.id/index.php/ilmuFarmasidanklinik/article/view/374/479>.
- Ngaisah S, 2010. Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) asal Magelang. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Notoatmodjo S, 2010. Metode Penelitian Kesehatan. Rineka Cipta: Jakarta.

- Otto M, 2012. MRSA virulence and spread. *Cellular Microbiology*. 14(10): 1513-21.
- Poeloengan M, Komala I, Noor SM, 2005. Bahaya Salmonella Terhadap Kesehatan. *Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis*. (30): 216–224.
- Pratiwi AE, 2015. Isolasi, seleksi da uji aktivitas antibakteri mikroba endofit dari daun tanaman *Garcinia benthami* Pierre terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhi*. Skripsi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Putri ZF, 2010. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahayu EU, 2011. Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *El-Hayah*. 1(4): 191–198.
- Rahmawati, N., Sudjarwo, E, 2011. Uji aktivitas antibakteri ekstrak herbal terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(3): 24–31.
- Salim, HHU, 2016. Pengaruh aktivitas antimikroba ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*) secara in vitro. Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Sari R, Isadiartuti D, 2006. Studi efektivitas sediaan gel antiseptik tangan ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*). *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(4): 163-169.
- Sastroasmoro S, 1995. Metode Penelitian Klinis Dasar. PT. Bina Rupa Aksara. Jakarta.
- Sears BF, Rohr JR, Allen JE, Martin LB, 2011. The economy of inflammation: When is less more? *Trends in Parasitology*. 27(9): 382–387. <http://doi.org/10.1016/j.pt.2011.05.004>
- Sendy VAA, 2014. Daya antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Sidabutar S, Satari HI, 2010. Pilihan terapi empiris demam tifoid pada anak : kloramfenikol atau seftriakson? *Sari Pediatri*. 6(11): 434-439.
- Sucipta AAM, 2015. Baku Emas Pemeriksaan Laboratorium Demam Tifoid Pada Anak. *Jurnal Skala Husada*. 12(3): 22–26.

Syarif A, Estuningtyas A, Muchtar HA, Arif A, Bahry B, Suyatna FD, *et al.*, 2012. Farmakologi dan terapan. Edisi ke-5. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. hlm 585-587.

Todar K, 2009. The Normal Bacterial Flora of Humans. University Of Wisconsin-Madison, Department of Bacteriology. Diakses dari (<http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/NormalFlora.html>).

Welsh KJ, Abbott AN, Lewis EM, Gardiner JM, Kruzel MC, Lewis CT, Armitige LY, 2010. Clinical characteristics, outcomes, and microbiologic features associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in pediatric patients treated with vancomycin. Journal of Clinical Microbiology. 48(3): 894– 899.