

**PENGARUH VARIASI METODE PENGUKURAN DAN MEDIA  
PERTUMBUHAN DALAM UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH  
HIJAU (*Piper Betle L*) TERHADAP BAKTERI *Bacillus cereus***

Saudi Fitri Susanti , May Khulwatun Aslah \*)

\*)Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik

**ABSTRACT**

*Piper betle L. can inhibit the growth of Bacillus cereus bacteria using the sensitivity test of the disc diffusion method and the well diffusion method with solid media. Sensitivity test on bacteria using MHA and NAP media. The purpose of this study was to compare these methods and media based on the diameter of the inhibition zone. This study used green betel leaf extract and Bacillus cereus bacteria. The results showed that there were different zones of inhibition in the MHA and NAP disc diffusion methods, the MHA and NAP media well diffusion methods. From these results, it was found that the inhibition zone on disc diffusion in media MH compared to NAP media, while in the pitting method the inhibitory zone was found to be larger NAP than media MHA. This data was analyzed using SPSS, with the Twoway Anova test with results <0.005, which means that H1 was accepted with an average inhibition zone of 0.131mm. it can be concluded that there are differences in the zone of inhibition in the variation of methods and growth media using green betel leaf extract against Bacillus cereus bacteria.*

**Keywords:** *Bacillus cereus, Piper Betle L, Disc diffusion method, Well diffusion method, MHA, NAP*

**PENDAHULUAN**

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 yaitu *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* menghasilkan enterotoksin penyebab diare yang lebih bersifat toksik daripada jenis bakteri intoksikasi yang lain (Salaki, 2011).

Pada penelitian ini dipilih sampel daun sirih yang akan di ekstrak dan diuji untuk uji aktivitas daya hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Daun sirih hijau memiliki indeks kemoterapi. Daun sirih mengandung banyak zat kimia, diantaranya seperti minyak atsiri, kavicol, kavibetol, dsb. Jadi pada dasarnya, daun sirih hijau

adalah salah satu tanaman yang selama ini dikenal memiliki manfaat sebagai antibiotik (Siamtuti, 2017).

Dalam pengukuran aktivitas daya hambat, metode yang umum digunakan adalah metode difusi, difusi dapat dilakukan dengan cara yaitu metode difusi cakram dan metode sumuran. Metode difusi cakram ini menggunakan kertas cakram yang berisi zat antimikroba dan diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri. Sedangkan metode sumuran ialah metode yang dilakukan dengan cara membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji.

Media Mueller Hinton Agar adalah media terbaik untuk pemeriksaan sensibilitas tes (dengan metode Kirby Media MHA banyak digunakan karena mengandung starch (tepung pati) yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan bakteri, sehingga tidak mengganggu antibiotik. Nutrient Agar (NA) merupakan media biakan yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Menurut Radji (2011), karbohidrat sangat dibutuhkan oleh bakteri karena karbohidrat merupakan substrat utama untuk metabolisme bakteri. Media Nutrient Agar merupakan suatu medium yang berbentuk padat, NA (*Nutrient Agar*) dibuat dari campuran ekstrak daging dan pepton dengan menggunakan agar sebagai pematat.

Penyakit infeksi oleh bakteri umumnya diobati dengan antibiotik. 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. Salah satu tanaman yang selama ini dikenal memiliki manfaat sebagai antibiotik adalah daun sirih hijau (Pangaribuan, dkk. 2019).

Dari jenis daun sirih tersebut, belum ada penelitian tentang efektivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan kedua metode yaitu difusi cakram dan difusi sumuran dengan media MHA dan NAP. Maka perlu dilakukan eksplorasi penelitian untuk mengukur kedua metode dan perbandingan media tersebut.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang Efektivitas daya hambat Ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* menggunakan metode difusi cakram dan metode sumuran dengan media MHA dan NAP.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan metode pengukuran difusi cakram dan metode sumuran terhadap aktivitas daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Bacillus cereus*, untuk mengetahui metode manakah yang paling efektif dalam uji daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Bacillus cereus*, untuk mengetahui perbedaan media MHA dan NA terhadap aktivitas daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Bacillus cereus*.

## BAHAN DAN METODE

Jenis rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental menggunakan teknik difusi cakram dan difusi sumuran. Sampel penelitian ini adalah daun sirih hijau (*Piper Betle* L) serta bakteri *Bacillus cereus*. Alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, rak tabung, ose bulat, lidi kapas, beakerglass, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, corong, kertas saring, erlenmeyer, batang pengaduk, pH meter. Bahan penelitian ini yaitu PZ steril, Aquadest steril, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, Etanol 96%, *blank disc*, *cloramphenikoli*, media MHA (*Mueller Hinton Agar*), media NAP (*Nutrient Agar Plate*)

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret - Juni. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi II Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik.

### Sampel

Sampel yang diperoleh dari stok bakteri murni Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya yang tersedia dalam media NAS (*Nutrient Agar Slide*) kemudian dikembangbiakkan dengan menggunakan media NAS (*Nutrient Agar Slide*) dari Laboratorium Mikrobiologi Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik. Setelah itu

diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### **Pembuatan Ekstrak daun sirih hijau**

Daun sirih hijau diperoleh dari kios penjual kembang di Pasar Sidoharjo daerah Lamongan Kota yang homogen sebanyak 50gram. Dicuci bersih dengan aquadest Dikeringkan, dan dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk direndam dalam etanol 96% selama 3x24 jam melalui penyaringan filtrat sirih hijau didapatkan Kemudian semua filtrat disaring dan dikentalkan melalui waterbath pada suhu 40°-50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

### **Sterilisasi alat dan bahan**

*Petridish*, tabung erlenmeyer, corong, pipet ukur dicuci terlebih dahulu kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf bersama dengan kapas lidi yang sudah dibungkus aluminium foil untuk disterilkan dengan suhu 121°C selama 15 menit sedangkan untuk pembuatan media MH ditimbang sebanyak 1,36 g dan NAP ditimbang sebanyak 0,8 g sesuai perhitungan, kemudian serbuk yang telah ditimbang dilarutkan dengan aquadest, dilarutkan hingga homogen dengan dipanaskan diatas api dan tidak sampai mendidih. PH media diatur  $7,4 \pm 0,2$  dengan larutan HCl 0,1 N dan NaOH 0,1 N, setelah pH sesuai media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dipertahankan selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi kemudian dituang ke cawan petri masing-masing 15 ml secara steril dengan bunsen. Media dibiarkan sampai membeku dan siap digunakan.

### **Pembuatan Standart Kekeuhan Mc Farland 0,5%**

Dua tabung reaksi steril ukuran 16 × 160 mm disiapkan untuk membuat standart kekeuhan *Mc Farland* 0.5% dan suspensi kuman. BaCl<sub>2</sub> 1% dipipet sebanyak 0.1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi pertama. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% dipipet sebanyak 9.9 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang

berisi 0.1 ml BaCl<sub>2</sub> 1%, dicampur hingga homogen. Campuran tersebut dipipet sebanyak 5 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril kedua. Ditambah aquadest steril sebanyak 5 ml dan dicampur hingga homogen. Standart kekeuhan *Mc Farland* siap digunakan sebagai pembanding suspensi kuman (kekeuhan yang terbentuk sebanding dengan kepadatan sel 1,5 juta CFU/ml) (Purnamasari, 2013).

### **Pembuatan Suspensi Bakteri**

NaCl 0.9% steril dipipet sebanyak 3 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril. Diambil satu mata ose koloni bakteri *Bacillus cereus*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0.9% , dicampur hingga homogen. Kemudian suspensi kuman di bandingkan dengan standart kekeuhan *Mc Farland* 0.5% (kekeuhan yang terbentuk pada suspensi kuman harus sama dengan standart *Mc Farland* 0.5%) (Purnamasari, 2013).

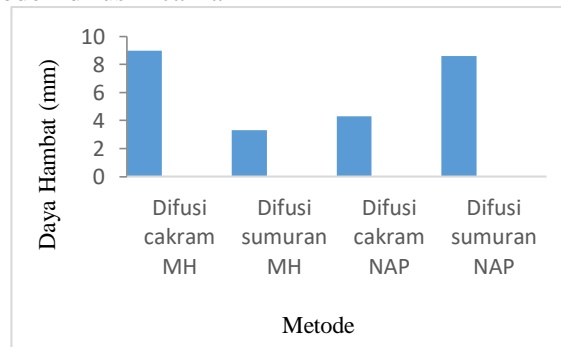
### **Uji Antimikroba**

Alat-alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan. Lidi kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi kuman *Bacillus cereus*, lidi kapas di tekan-tekan pada dinding tabung untuk membuang kelebihan kuman di inokulum. Di inokulasikan pada media MHA dan NAP sambil memutar 60° dengan teknik tanam penuh., dan dibiarkan selama 10 menit. *Blank disk* dan lubang sumuran ditetesi ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle* L.) dengan konsentrasi 100% sebanyak 100 µl (Handayani dkk, 2017). *Blank disk* yang sudah ditetesi dengan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Bacillus cereus* L.) diletakkan pada media MHA dan NAP dengan jarak 2 cm antar *blank disk*. Kemudian di inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. diamati dan di ukur diameter zona terang yang terbentuk menggunakan penggaris atau jangka sorong.

## HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan zona hambat pada metode difusi cakram

dengan metode difusi sumuran. Hal ini dapat Dilihat berdasarkan Gambar 1.



**Gambar 1.** Hasil diagram zona hambat yang terbentuk pada difusi cakram dan metode sumuran pada *Bacillus cereus*

Hasil uji perbandingan zona hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Bacillus cereus* menggunakan metode difusi cakram dan difusi sumuran pada media Muller Hinton dan Nutrient Agar, didapatkan hasil ada perbedaan zona hambat. Pada metode difusi cakram MHA diameter zona hambat tertinggi terdapat pada control positif yang menggunakan *chloramphenicol* didapatkan hasil zona hambat rata-rata sebesar 9 mm, dan diameter zona hambat terendah terdapat pada difusi sumuran media MHA dengan hasil zona hambat rata-rata 3,3mm.

Hasil uji daya hambat dengan pengaruh ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* pada metode difusi cakram rata-rata zona hambat yang dihasilkan yaitu 9mm pada Media MHA dengan kategori respon hambat Intermediate (sedang), pada metode difusi cakram media NAP didapati hasil zona hambat dengan rata-rata 3,3mm dengan kategori respon hambat Sensitif, pada metode difusi sumuran media MHA zona hambat yang dihasilkan rata-rata yaitu 4,3mm dengan kategori respons hambat Sensitif, pada metode difusi sumuran media NAP zona hambat yang dihasilkan rata-rata yaitu 8,3mm dengan kategori respon hambat Intermediate

(sedang). Ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle L*) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*.

Untuk membuktikan bahwa pada metode difusi disk dan metode sumuran memiliki nilai rata yang berbeda-beda. Berdasarkan hasil diatas dapat dilakukan uji normalitas terlebih dahulu kemudian didapatkan bahwa nilai signifikan dari uji normalitas adalah yang bernilai  $<0,05$ , sehingga keputusan adalah tolak  $H_0$ . Pada penelitian ini menggunakan uji TWOWAY ANNOVA untuk mengetahui perbedaan rata-rata antara lebih dari dua grup.

## PEMBAHASAN

### Perbandingan uji daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle L*) dengan metode difusi cakram dan difusi sumuran

Setelah dilakukan penelitian uji perbedaan zona hambat pada metode difusi cakram dengan kultur media MHA terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan ukuran zona hambat pada metode difusi cakram media MHA dengan media NAP dalam menghambat bakteri *Bacillus cereus*. Pada media MHA metode difusi cakram ukuran zona hambat lebih besar yang ditandai dengan

besarnya ukuran diameter zona hambat pada Control positif menggunakan *chloramphenikol* sebesar 14 mm, dan didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 9 mm, jika dibandingkan dengan metode difusi cakram media kultur NAP ukuran zona hambat sebesar 8 mm dengan rata-rata sebesar 4,3 mm. Hal ini dibuktikan bahwa pada uji statistik menggunakan Two-way ANOVA didapatkan hasil signifikan 0,131 dari nilai standar normal signifikan  $<0,005$  yang artinya ada perbedaan zona hambat terhadap perbedaan metode difusi cakram kultur media MHA dan NAP.

Pada uji perbedaan zona hambat metode difusi sumuran media MHA dan NAP terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat bahwa

terdapat perbedaan ukuran zona hambat yang terbentuk pada media MHA dan

NAP. Pada metode sumuran kultur NAP ukuran zona hambat terbentuk lebih besar dibandingkan kultur MHA yang ditandai dengan besarnya ukuran zona hambat sebesar 24 mm dan didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 8,3 mm. Sedangkan metode sumuran pada media kultur MHA ukuran zona hambat terbentuk lebih kecil dengan ukuran sebesar 8 mm dengan rata-rata zona hambat 4,3 mm.

Hal ini dapat terjadi dikarenakan pada metode sumuran terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak lebih tinggi dari metode difusi cakram, setiap lubang diisi ekstrak daun sirih hijau maka osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih sitasi.

**Tabel 1.** Uji Statistik perbedaan zona hambat aktivitas uji daya hambat dengan variasi metode pengukuran dan metode pertumbuhan ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*

Uraian	Sign
Uji Normalitas	0,146
Uji Homogenitas	0,251
Uji Two-way Annova	0,131

Hasil uji analisa data pada uji normalitas didapatkan nilai signifikansi zona hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle L.*) pada pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* yaitu ( $P = 0,146$ ), dimana nilainya lebih besar dari nilai standar yaitu ( $P > 0,05$ ), sehingga menunjukkan data berdistribusi normal. Selanjutnya pada uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai ( $P=0,251$ ), dimana nilainya lebih besar dari nilai standar normal ( $P>0.05$ ), Maka data penelitian homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu uji *Two-Way Anova*.

Hasil analisis data menggunakan uji *Two-Way Anova* didapatkan hasil bahwa ( $P=0.131$ ) dimana nilainya lebih dari nilai standar ( $P<0.05$ ). Hasil analisis data

tersebut menunjukkan bahwa  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, dan hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara metode difusi cakram dan difusi sumuran dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Hasil ini juga menunjukkan bahwa  $H_{02}$  ditolak dan  $H_{12}$  diterima karna terdapat perbedaan pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* pada media MHA dan NAP. Karena pada media MHA didapati pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan luas menyebar rata dibandingkan dengan media NAP.



### **Pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau terhadap kultur media MHA dan NAP terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus***

Pada hasil penelitian ini terdapat perbedaan pada pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle* L) dalam media kultur *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *Nutrient Agar Plate* (NAP) pada pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Pada pemberian ekstrak daun sirih hijau kultur media MHA didapati pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* yang sangat luas dan menyebar rata. Sedangkan pada pemberian ekstrak daun sirih hijau media kultur NAP di dapati pertumbuhan bakteri sedikit. Hal ini terjadi dikarenakan komposisi *Mueller Hinton Agar* (MHA) mengandung *stracth* (tepung pati) yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan oleh bakteri, sehingga tidak mengganggu antibiotik (Aryala, 2018).

Hal tersebut dikarenakan terdapat perbedaan pada komposisi dan kandungan media. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) terdapat komposisi *Beef extract* 2 gram, *hydrolysate of casein* 17,5 gram, *stracth* 1,5 gram, agar 17 gram (Atlas, 2010). Sedangkan komposisi *Nutrient Agar* (NAP) yaitu *Beef extract* 3 gram, pepton 5 gram, Agar 15 gram (Atlas, 2010). Dilihat dari komposisi pada media MHA dan NAP yang membedakan yaitu kandungan *stracth* yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan oleh bakteri. oleh karena itu pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* tersebar luas dan rata. Hal ini dikuatkan dengan laporan Radji (2011), bahwa ukuran zona hambat dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas media, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antibiotik, dan interaksi antibiotik dengan media.

### **Efektivitas daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Bacillus***

### ***cereus* dengan variasi metode pengukuran dan media pertumbuhan**

Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle* L.) dengan variasi metode pengukuran dan media pertumbuhan terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Gambar 1. Dari gambar 1 dapat dilihat bahwa zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* memiliki nilai diameter yang berbeda dan memiliki kriteria kekuatan aktivitas antibakteri yang berbeda pula. Pada ulangan ke-enam pada metode difusi cakram dan difusi sumuran memiliki kekuatan daya hambat sedang, pada ulangan ke-lima metode difusi cakram dan difusi sumuran memiliki kekuatan daya hambat sedang.

Hasil penelitian tersebut memiliki kesesuaian dengan hasil penelitian yang telah dilakukan Seila (2012) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle* L) memiliki kandungan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Hal ini terjadi karena pada ekstrak daun sirih hijau mempunyai komponen minyak atsiri sebagai antibakteri. Perbedaan besar diameter zona hambat ini kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan kecepatan ekstrak yang berdifusi ke medium agar. Faktor lain yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle* L.) adalah karena perbedaan metode dan media pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan penelitian Setyowati dkk (2013), bahwa ukuran zona hambat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti kecepatan difusi dari senyawa antibakteri, tingkat sensitivitas dari organisme uji, dan konsentrasi senyawa bakteri.

Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Seila (2012), menyatakan bahwa di dalam minyak atsiri terdapat senyawa fenol dan turunannya yang

dapat mendenturasi protein sel bakteri. kavikol adalah salah satu turunan dari senyawa fenol dan memiliki bakterisida lima kali lebih kuat dari fenol. Fenol berfungsi untuk mengganggu struktur tiga dimensi protein dan kemudian menjadi struktur acak tanpa kerusakan pada struktur kerangka kovalen.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan membentuk senyawa kompleks dan menyebabkan rusaknya ikatan protein membran sel, sehingga senyawa flavonoid masuk dan menembus ke dalam inti sel (Pangalihan dkk., 2012 dalam Niah, 2018). Tanin merupakan polimer dari senyawa fenol yang mempunyai kemampuan untuk inaktivasi adhesin sel bakteri, menginaktivkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Sedangkan mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah dengan menyebabkan peningkatan permeabilitas sel melalui penurunan tegangan permukaan sel. Hal ini menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler (Turk, 2006 dalam Niah, 2018). Sementara mekanisme kerja steroid dalam menghambat pertumbuhan bakteri berhubungan dengan membran lipid pada bakteri dan sensitivitas komponen steroid yang dapat menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri (Madduluri *et al.*, 2013). Steroid juga dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun dan menyebabkan sel lisis (Sapara dkk., 2016).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh perbedaan metode dan media kultur dengan ekstrak Daun sirih hijau (*Piper Betle L*) dalam uji daya hambat terhadap bakteri *Bacillus cereus* dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Terdapat perbedaan daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap

pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* pada metode difusi cakram dan sumuran. Pada media *Nutrient agar* plate metode sumuran ukuran diameter zona hambat lebih besar dari pada di media muller hinton agar sebesar 8,6 mm, dalam metode difusi cakram pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* lebih besar pada Media Muller Hinton Agar dari pada Nutrient Agar sebesar 9mm.

2. Pada penelitian ini metode yang paling efektif pada daya hebat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Bacillus cereus* yaitu metode difusi cakram pada media MH, sedangkan pada metode difusi sumuran efektif pada media NAP.
3. Terdapat pengaruh perbedaan metode dan media pada ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* karena pada media Muiller Hinton agar pertumbuhan bakteri sangat merata dan luas.

## SARAN

Bagi peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian untuk uji daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper Betle L*) terhadap pertumbuhan bakteri jenis lain dengan media kultur yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aryala, Sagar. 2018. *Composition, Principle, Suez and Preparation Microbiology info*. Diakses 7 Juli 2019.
- Atlas, R. M. 2010. *Handbook of Microbiological media, Fourth Edition*. United States America : CRC Press
- Madduluri S., Rao K.B., Sitaram B. 2013. *In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human*. International Journal of Pharmacy and

- Pharmaceutical Science. 5 (4): 679-84.
- Makmur, Bambang. 2014. Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Deskripsi Tanaman Sirih adalah salah satu jenis tumbuhan yang berasal dari *family Piperacea*. Jakarta. 2(2), 16-27.
- Niah, turk. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Daun Karamunting (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap *Salmonella typhi*. Jurnal Insan Farmasi Indonesia. 1(1), 113-121.
- Pangaribuan, dkk. 2019. Persepsi Peternak Terhadap Penggunaan Antibiotik Pada Peternakan Ayam Pedaging Komersial Di Provinsi Kalimantan Barat. Kalimantan Barat. 2(3), 3-4.
- Purnamasari, Suci. 2013. Aktivitas Antibakteri Infusa Biji Buah Langsung (*Lansium domesticum* Cor.) Terhadap *Streptococcus pneumonia*. Fakultas kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Radji, Maksum et al. 2011. *Isolation of fungal endophytes from Garcinia mangostana and their antibacterial activity*. African Journal of Biotechnology. 10(1), 103-107.
- Retnaningsih, A., Primadhamanti, A., & Marisa, I. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Shigella dysenteriae* Dengan Metode Difusi Sumuran. Jurnal Analis Farmasi. 4(2), 122-129.
- Salaki, Christine. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri (*Bacillus cereus* FRANK) sebagai Agensia Pengendali Hayati Hama Kubis. Fakultas pertanian Unsrat Manado. 17(1)
- Sapara, T.U., Olivia W., Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT Manado. 5 (4). ISSN 2302-2493
- Setyowati, dkk. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus Murr*) Varietas Petruk. Universitas Negeri Semarang.
- Siamtuti, W. S., Aftiarani, dkk. 2017. Potensi Daun Sirih (*Piper betle, L*) Dalam Pembuatan Insektisida Nabati yang Ramah Lingkungan. Prosiding SNPBS (Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek) Ke-2.