

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Dibanding Negara lain, Indonesia dianugerahi kelebihan dengan pemberian kekayaan berupa flora yang beraneka ragam. Berbagai manfaat dari flora tersebut tentu saja telah dirasakan oleh masyarakat sejak zaman dahulu. Salah satu yang terpenting dari komoditas tersebut adalah rempah-rempah, yang sudah dikenal di mancanegara. Sebagai bukti, kedatangan bangsa Portugis, Spanyol, maupun Belanda pada zaman dahulu, salah satu faktor penyebabnya adalah kekayaan rempah-rempah nusantara yang menjadi bumbu istimewa pada setiap masakan (Nurawan, Hartati dan Bandjar, 2005).

Keanekaragaman tumbuhan yang dimiliki Indonesia merupakan salah satu nikmat yang diberikan oleh Allah kepada kita, sehingga kita patut bersyukur dan memanfaatkannya dengan baik, sebagaimana di dalam firman Allah Swt. dalam surat Al-an'am ayat 99

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ
خَضِرًا حُجْرًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ
أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ
إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.”

Ayat diatas menjelaskan bagaimana buah diciptakan dan berkembang pada fase yang berbeda-beda sehingga sampai pada fase kematangan secara sempurna, dan berbagai unsur yang beraneka ragam didalamnya yang salah satunya dapat kita manfaatkan sebagai obat tradisional dan senyawa antibakteri. Ayat diatas juga menjelaskan bahwasannya Allah menciptakan berbagai jenis tumbuhan di bumi ini, dan semua itu tiada yang sia-sia, oleh sebab itu manusia yang telah dibekali akal oleh Allah mempunyai kewajiban untuk memikirkan, mengkaji serta meneliti apa yang telah Allah berikan untuk kita. Banyak hasil penelitian yang menyebutkan potensi suatu tanaman dalam mengobati penyakit tertentu ataupun sebagai antibakteri (Ummah, 2010).

Salah satu keanekaragaman tanaman di Indonesia yang sekarang manfaatnya banyak dikembangkan adalah lada hitam (*Piper nigrum*). Pada beberapa penelitian telah diketahui bahwa lada hitam memiliki berbagai senyawa antibakteri seperti eugenol, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid (Murwani, Dewi, dan Muliana, 2011). Piperin merupakan senyawa alkaloid. Dalam dunia medis piperin dapat berkhasiat sebagai antioksidan dan antidiare (Murwani, Endang dan Yunita, 2012).

Di dalam setiap tanaman terdapat senyawa aktif yang termasuk ke dalam metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah bahan senyawa aktif

non nutrisi yang mengontrol spesies biologi dalam lingkungan Senyawa aktif tersebut dapat digunakan dalam pembuatan obat-obatan. Sediaan obat tersebut dapat berbentuk ekstrak (Sastrohamidjojo, 1996 “dalam” Ningrum, Yeni dan Ariyati, 2013). Untuk mengambil senyawa aktif pada lada hitam dapat dilakukan dengan ekstraksi. Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan massa zat aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh pelarut sehingga terjadi larutan zat aktif dalam pelarut. Salah satu metode dalam ekstraksi yaitu dengan cara dekok. Dekok adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 30 menit. Dari beberapa referensi jurnal belum ditemukan yang menggunakan cara dekok dalam mengambil senyawa aktif pada lada hitam. Selain itu untuk memberi informasi tambahan kepada masyarakat umum bahwa cara dekok ini dapat dilakukan dengan peralatan yang sederhana, dan tidak harus dilaksanakan di dalam laboratorium, sehingga dalam penelitian ini ekstrak didapatkan dengan cara dekok. Dekok yang diperoleh disaring dan diujikan pada bakteri *Escherichia coli*.

E. coli termasuk bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia. Beberapa bakteri *E. coli* patogen yang digolongkan sebagai penyebab diare, yaitu *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enteroadherent E. coli* (EAEC), *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *Enteroinvasive E. Coli* (EIHEC) (Zein, Sagala dan Ginting, 2004). *E.coli* Umumnya dijumpai dalam perairan, sebagai indikator air tercemar (Inayati, 2007). *E. coli* dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui konsumsi air maupun makanan berupa daging, susu mentah serta produk susu.

Adanya bakteri *coliform* di dalam makanan atau minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroorganisme yang berbahaya bagi kesehatan (Fardiaz, 1993 “dalam” Ningrum, Yeni dan Ariyati, 2013).

Daya hambat suatu zat terhadap bakteri ditentukan oleh diameter zona bening yang terbentuk. Semakin besar diameternya, maka semakin terhambat pertumbuhannya. Apabila suatu tanaman memiliki zat aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri, maka zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan membentuk zona bening (Ningrum *dkk*, 2013). Informasi dari hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan ke dalam pembelajaran pada sub materi peranan bakteri untuk mendukung penjelasan materi agar pembelajaran dapat berlangsung dengan efektif.

Salah satu indikator yang terdapat di dalam silabus pada materi tumbuhan biji di kelas X SMA/MA adalah: Mengumpulkan informasi tentang peranan tumbuhan berbiji bagi manusia. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah tanaman lada hitam dapat menghambat bakteri *E.coli*, kemudian hasil penelitian akan diimplementasikan dalam pembelajaran.

Berdasarkan uraian di atas, terkait dengan kandungan yang terdapat di dalam lada hitam, kemudian sebagai informasi kepada masyarakat umum bahwa Ekstrak lada hitam dapat digunakan sebagai antibakteri dan hubungannya dengan dunia pendidikan, maka peneliti ingin melakukan penelitian dengan judul **“Uji Daya Hambat Ekstrak Lada hitam (*Piper nigrum* Linn.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan Sumbangsihnya pada Materi Tumbuhan Biji di Kelas X SMA/MA”**.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini antara lain :

1. Apakah ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* ?
2. Pada konsentrasi berapakah ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) dapat memberikan hasil optimal dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* ?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui uji daya hambat ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) yang dapat memberikan hasil optimal dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*.

D. Manfaat Penelitian

Dengan diketahui adanya antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* maka manfaat yang diharapkan antara lain:

1. Secara Teoritik
 - a. Penelitian ini diharapkan dapat memperdalam kajian teori tentang Tumbuhan Biji.
 - b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan dan sumbangan ilmu pengetahuan kepada pembaca khususnya dalam mata pelajaran Biologi pada Materi Tumbuhan Biji di Kelas X SMA/MA.

2. Secara Praktik

Dapat memberikan tambahan informasi kepada masyarakat bahwa ekstrak lada hitam dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% . Dan dapat dijadikan sebagai bahan praktikum di sekolah pada siswa kelas X SMA/MA mengenai materi tumbuhan biji.

E. Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

H₀ : Pemberian ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) tidak berpengaruh terhadap bakteri *Escherichia coli*

H₁ : Pemberian ekstrak lada hitam (*Piper nigrum*) berpengaruh terhadap bakteri *Escherichia coli*

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Lada (*Piper nigrum*)

Lada merupakan salah satu jenis rempah yang dimanfaatkan sebagai bumbu dalam berbagai masakan. Buah lada berbentuk bulat saat muda berwarna hijau dan setelah matang berwarna merah. Genus *Piper* ditemukan oleh Linnaeus dan memiliki banyak spesies. Sekitar 600 – 2.000 spesies di antaranya tersebar di daerah tropis. Dari jumlah tersebut, terdapat beberapa spesies yang telah dibudidayakan, antara lain lada (*P. nigrum*), sirih (*Piper betle*), dan cabai jawa (*Piper retrofractum*) (Anonim, 2013:34).

Daerah penghasil lada terbesar di Provinsi Lampung, Kepulauan Bangka Belitung, Kalimantan Timur dan Kalimantan Barat. Luas areal dan produksi lada selama tahun 2000-2005 cenderung meningkat, yaitu dari 150.531 ha pada tahun 2000 menjadi 211.729 ha pada tahun 2005, dan produksi dari 69.087 ton pada tahun 2000 menjadi 99.139 ton pada tahun 2005. Total ekspor lada dari negara-negara produsen pada tahun 2005 mencapai 230.625 ton. Dari total ekspor tersebut, Indonesia mengekspor 45.760 ton atau sekitar 19,80% (Muhiedin, 2008).



Gambar 1. Tanaman Lada (*P.nigrum*)
(Sumber: doc.unpad.ac.id, 2013)

Klasifikasi tanaman lada menurut Tjitrosoepomo (2010:119) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Piperales
Familia : Piperaceae
Genus : Piper
Spesies : *Piper nigrum* Linn.

1. Morfologi Tanaman

Ciri-ciri morfologi tanaman lada antara lain merupakan tanaman semak belukar, herba, berbatang kecil menjalar dan bunganya majemuk berbentuk bulir dan menggantung (Muhiedin, 2008). Morfologi lada meliputi akar, batang, daun, bunga, buah dan biji (Anonim, 2013:34).

a) Akar

Pada garis besarnya lada mempunyai 2 jenis akar, yakni:

(1) Akar yang terdapat di atas tanah

Akar yang terdapat di atas tanah juga disebut akar lekat atau akar panjat. Akar lekat ini berguna untuk melekat atau memanjat pada tajarnya, sehingga tanaman bisa tumbuh ke atas. Akar-akar lekat ini hanya tumbuh pada buku batang *orthotrop*, sedangkan pada cabang-cabang buah tidak akan tumbuh akar lekat (Anonim, 2013:35).

(2) Akar yang terdapat di dalam tanah

Akar yang terdapat di dalam tanah juga disebut akar utama. Akar-akar ini selain tumbuh pada bukannya yang merupakan perpanjangan dari akar lekat, juga tumbuh pada bekas-bekas potongan batang. Akar utama tumbuh pada pangkal batang, sehingga pada suatu batang bisa terdapat 10-20 akar utama. Pada akar utama itu akan tumbuh akar samping dengan bulu akar yang banyak sekali. Bulu-bulu akar tersebut dapat berkembang di permukaan tanah dan berguna untuk menghisap makanan yang diperlukan. Apabila keadaan tanah memungkinkan, maka akar itu akan dapat menembus tanah sedalam 12 m. Sedangkan panjangnya akar bisa mencapai 2-4 m. Tetapi pada umumnya sistem perakaran lada cukup dangkal, hanya mencapai kedalaman antara 30-60 cm saja (Anonim, 2013:36).

b) Batang

Bagian-bagian batang di atas tanah ada 3 jenis :

(1) Stolon : tandas (batang primer).

Stolon atau batang primer juga disebut batang dasar; istilah Lampung, stolon ini apa yang disebut tandas. Stolon merupakan batang pokok atau batang induk yang tumbuh memanjat di mana batang-batang lain seperti cabang *orthotrop* dan cabang *plagiotrop* akan tumbuh. Batang ini berbentuk agak pipih, dan setelah berdiameter 4-6 cm, berbenjol, berwarna abu-abu tua, beruas-ruas dan lekas berkayu serta berakar lekat. Sedangkan pada kuncupnya, batang tersebut membengkok. Setiap ruas panjangnya bisa

mencapai 7-12 cm; dan pada bukunya tumbuh sehelai daun dan satu kuncup yang saling berhadapan (Kanisius, 1980:15).

Tanaman lada masih muda, yaitu umur 8-12 bulan akan mencapai ketinggian 11,5 m dengan ruas yang jumlahnya \pm 20 buah. Setelah itu, barulah pada tanaman tersebut akan tumbuh cabang-cabang itu juga disebut kayu primer, sekunder, testier. Pada umumnya tunas atau kuncup tidak akan tumbuh pada setiap ruas, melainkan setelah tumbuh cabang sekunder 3-4 ruas lagi, barulah kuncup yang baru dan seterusnya. Kadang-kadang dialami, setelah tumbuh 7-10 ruas barulah tumbuh kuncup yang lain (Kanisius, 1980:15).

(2) Cabang *orthotrop*

Cabang-cabang ini tumbuh pada batang pokok. Cabang tersebut bentuknya bulat, berkuncup yang berjauhan dan tumbuhnya memanjat ke atas. Cabang-cabang ini kedudukannya sama dengan batang primer karena mereka juga berakar lekat, memanjat serta beruas-ruas (Kanisius, 1980:15).

Pada setiap buku terdapat sehelai daun yang berhadapan dengan cabang *plagiotrop* dan segumpal akar lekat yang mengikat tanaman pada tajarnya. Semua cabang yang mengarah ke atas disebut cabang *orthotrop*. Apabila cabang-cabang itu tak melekat pada tajar, tetapi memanjang terus ke bawah atau menggantung, maka cabang itu disebut sulur gantung, sedang yang tumbuh pada pertumbuhan tanah disebut sulur tanah. Baik sulur

tanah ataupun sulur gantung dapat digunakan sebagai bibit (Kanisius, 1980:16).

(3) Cabang *plagiotrop*: cabang buah

Cabang *plagiotrop* ialah ranting-ranting yang tumbuh dari batang *orthotrop*, yang jumlahnya banyak sekali. Ranting-ranting ini pendek, kecil dan tidak melekat pada tajar karena masing-masing bukannya tidak berakar lekat. Pada setiap buku tumbuh sehelai daun yang saling berhadapan, dan disinilah akan tumbuh malai bunga. Cabang *plagiotrop* ini tumbuhnya selalu ke samping (*lateral*), dan pada cabang *plagiotrop* ini masih bisa tumbuh ranting-ranting lagi. Inilah bagian-bagian yang selalu mengeluarkan malai bunga atau buah, maka ia juga disebut cabang-cabang buah (Kanisius, 1980:16).

c) Daun

Daun lada bentuknya sederhana, tunggal, bentuk bulat telur meruncing pucuknya, bertangkai panjang 2-5 cm dan membentuk aluran dibagian atasnya. Ukuran daun 8-10 x 4-12 cm. berurat 5-7 helai, hijau tua warnanya, mengkilau bagian atasnya, pucat dibagian bawah. Di bagian bawah ini nampak titik-titik kelenjar (Rismunandar, 1987).

d) Bunga

Menurut Kanisius (1980:18), bagian-bagian yang dapat berbunga hanyalah cabang-cabang *plagiotrop* atau cabang-cabang buah. Bunga-bunga itu tumbuh pada malai bunga, sedangkan malai bunga itu sendiri tumbuh pada ruas-ruas cabang buah yang berhadap-hadapan dengan

daun. Sebagaimana bunga yang lain, maka bunga lada juga mempunyai bagian, antara lain:

(1) Tajuk bunga atau dasar bunga.

Tajuk bunga ini berwarna hijau atau melekat pada malai. Apabila sudah tumbuh buah, tajuk ini akan merupakan dasar buah atau tempat duduk buah, karena buahnya tidak bertangkai.

(2) Mahkota bunga.

Ini berwarna kuning kehijau-hijauan dan tumbuh pada dasar bunga. Bentuknya sangat kecil dan halus, sedang beberapa hari setelah terjadi penyerbukan, maka daun bunga itu akan layu dan akhirnya mengering.

(3) Putik.

Putik adalah alat betina, bagian ini merupakan terusan dari ovarium. Putik terdiri dari: **Ovarium**, mengandung sebuah sel telur yang berdiri tegak dan bertangkai pendek. **Bakal buah**, yang dilengkapi dengan tangkai kepala putik dengan bentuk bintang yang terdapat 35 tangkai. Setiap tangkai panjangnya 1 mm serta terdapat kepala putik basah dengan garis tengah 10 mu (1 mu = 1/1000 mm). **Benang sari**. Benang sari adalah alat jantan, terdiri dari 2 atau 4 tangkai benang sari dan kepala benang sari. Di dalam kepala benang sari terdapat tepung sari yang berguna untuk menyerbuk putik-putik. Tangkai benang sari panjangnya 1 mm, sedang kepala benang sari besarnya 10 mu, dan bundar. Karena bunga lada itu memiliki putik dan benang sari, maka disebut bunga sempurna atau berumah satu. Malai yang tumbuh lebih dulu adalah

malai yang dekat pucuk-pucuk cabang buah, kemudian disusul malai-malai dibawahnya. Selanjutnya apabila semua ruas cabang buah itu sudah tumbuh beberapa malai, maka malai itu akan mengarah ke bawah atau menggantung. Tiap malai bunga panjangnya 7-12 cm, dan tumbuh bunga maksimal 150 (Anonim, 2013:40).

e) Buah dan Biji

Buah merupakan produksi pokok dari pada hasil tanaman lada. Buah lada mempunyai ciri-ciri khas sebagai berikut:

(1) Bentuk dan warna buah

Buah lada berbentuk bulat, berbiji keras dan berkulit buah yang lunak. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau, sedangkan yang tua berwarna kuning. Dan apabila buah sudah masak berwarna merah, berlendir dengan rasa manis. Maka buah lada disukai burung-burung berkicau. Sesudah dikeringkan lada itu berwarna hitam (Anonim, 2013:41).

(2) Kedudukan buah

Buah lada merupakan buah duduk, yang melekat pada malai. Besar kulit dan bijinya 4-6 mm. Sedangkan besarnya biji 3-4 mm. Berat 100 biji kurang lebih 38 gr atau rata-rata 4,5 gr (Anonim, 2013:41).

(3) Keadaan kulit buah

Kulit buah atau *pericarp* terdiri dari 3 bagian, yaitu *Epicarp* = kulit luar, *Mesocarp* = kulit tengah dan *Endocarp* = kulit dalam (Anonim, 2013:41).

(4) Biji

Di dalam kulit ini terdapat biji-biji yang merupakan produk dari lada, biji-biji ini juga mempunyai lapisan kulit yang keras (Anonim, 2013:41).

2. Kandungan yang terdapat pada Lada Hitam

Buah lada hitam mengandung zat aktif eugenol, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid yang berpotensi sebagai antibakteri. Eugenol berfungsi dengan mengganggu struktur lipid bilayer pada membran terluar bakteri dengan cara membagi-bagi lipid dan mitokondria pada membran bakteri menjadi struktur yang lebih kecil. Terpenoid bersifat lipofilik sehingga turut merusak membran sel bakteri. Flavonoid memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri, dengan terbentuknya kompleks tersebut maka terjadi hambatan pada regulasi protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri. Alkaloid berfungsi menghambat sintesis DNA bakteri (Murwani *dkk*, 2011). Selain itu, lada hitam juga mengandung saponin (Sanarto, Hidayati, Baktian, dan Margawuni, 2011). Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel (Ningrum *dkk*, 2013).

Menurut Rismunandar (1987:18) rasa pedas pada lada akibat adanya zat piperin, piperanin dan chavicin. Piperin sejenis alkaloida yang bertanggung jawab atas rasa biji lada. Buah lada mengandung 5-9%

piperin. Chavicin merupakan persenyawaan dari piperin dengan semacam alkaloida. Chavicin banyak berada dalam daging biji lada (*mesocarp*) dan tidak akan hilang akibat dari penjemuran biji lada yang masih berdaging, hingga menjadi lada hitam. Maka tidak salah apabila lada hitam lebih pedas dari lada putih. Sedangkan aroma dari biji lada adalah akibat adanya minyak atsiri.

3. Khasiat Lada

Menurut Kanisius (1980:8) khasiat lada diantaranya yaitu:

a) Sebagai bumbu masakan

Lada bisa dipergunakan sebagai bumbu dalam berbagai masakan tertentu. Lada sebagai bumbu masakan bisa memberikan bau sedap dan menambah rasa kelezatan makanan. Dengan demikian lada sebagai bumbu suatu makanan akan memberikan atau menambah selera makan. Lada sebagai bumbu juga dipergunakan sebagai pengawet daging, misalnya pada daging yang dibuat dendeng.

b) Sebagai bahan obat-obatan

Lada juga bisa dipergunakan sebagai bahan obat-obatan, lebih-lebih obat-obatan tradisional Jawa. Lada hitam memiliki beberapa khasiat antaranya adalah untuk melancarkan menstruasi, meredakan serangan asma, meringankan gejala reumatik, mengatasi diare, serta menyembuhkan rasa sakit kepala (Sanarto *dkk*, 2011).

c) Sebagai bahan minyak lada

Lada hitam dapat menghasilkan minyak lada. Minyak lada ini dihasilkan dari penyulingan kulitnya. Minyak lada mempunyai bau yang sedap. Bau tersebut bisa dipergunakan sebagai wangi-wangian.

B. Ekstraksi Lada Hitam

Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan massa zat aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh pelarut sehingga terjadi larutan zat aktif dalam pelarut tersebut. Pada umumnya ekstraksi akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan pelarut makin halus. Dengan demikian, makin halus serbuk simplisia, seharusnya makin baik ekstraksinya. Tetapi dalam pelaksanaannya tidak selalu demikian karena ekstraksi masih tergantung juga pada sifat fisik dan kimia simplisia yang bersangkutan (Ahmad, 2006 “*dalam*” Lathifah, 2008).

Menurut Depkes RI (2000) “*dalam*” Simanjuntak (2008), Ekstraksi adalah proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan pelarut tertentu. Ada beberapa metode ekstraksi, yaitu:

1. Cara Dingin

- a) Maserasi, adalah proses pengekstrakkan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Remaserasi berarti pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.
- b) Perkolasi, adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

2. Cara Panas

- a) Refluks, adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
- b) Digesti, adalah maserasi dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar yaitu pada 40-50°C.
- c) Infus, adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 90°C) selama 15 menit.
- d) Dekok, adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 30 menit, terhitung setelah panci bagian bawah mulai mendidih (Farmakope Indonesia, 1995 “dalam” Umniatie, 2011). Air merupakan pelarut polar. Dimana pelarut polar memiliki tingkat kepolaran yang tinggi, cocok untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang polar dari tanaman. Pelarut polar cenderung universal digunakan karena biasanya walaupun polar, tetap dapat menyari senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah (Hegarpramastya, 2011).
- e) Sokletasi, adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas saring) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja secara berkelanjutan (Voigt, 1995 “dalam” Simanjuntak, 2008).

C. Uji Antibakteri

1. Antibakteri

Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Pelczar dan Chan, 2012:449-450). Cara kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 2012:457).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode kertas cakram merupakan teknik yang paling umum dipakai untuk menetapkan kerentanan mikroorganisme terhadap zat antibakteri. Kertas cakram diresapkan pada zat antibakteri dalam jumlah tertentu kemudian kertas cakram diletakkan pada permukaan cawan petri yang telah diinokulasi dengan bakteri uji (Pelczar dan Chan, 2012:535)

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). (Pratiwi, 2008 “dalam” Dewi, 2010).

Daya hambat suatu zat terhadap bakteri ditentukan oleh diameter zona bening yang terbentuk. Semakin besar diameternya, maka semakin terhambat pertumbuhannya. Apabila suatu tanaman memiliki zat aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri, maka zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan membentuk zona bening (zona hambat) (Bachtiar, Tjahjaningsih & Sianita, 2012).

Tabel 1. Kategori Penghambatan Antimikroba Berdasarkan Diameter Zona Hambat

Diameter (mm)	Respon hambatan pertumbuhan
0-3 mm	Lemah
3-6 mm	Sedang
> 6 mm	Kuat

Sumber: Pan, Chen, Wu, Tang, and Zhao (2009) “dalam” Maghriby, Sarwiyono dan Surjowardojo (2014)

2. Bakteri Uji

Escherichia coli merupakan flora normal saluran pencernaan. Flora normal adalah mikroba yang secara alamiah menghuni tubuh manusia. *E.coli* adalah bakteri Gram Negatif yang berbentuk batang pendek lurus

(kokobasil), dengan ukuran 1,1-1,5 μm x 2,0-6,0 μm . *E. coli* tidak memiliki kapsul dan spora. Bersifat anaerob fakultatif, tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana (Pelczar dan Chan, 2012:557).

Kebanyakan strain *E. coli* tidak bersifat membahayakan, tetapi ada juga yang bersifat patogen terhadap manusia, seperti *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enteroadherent E. coli* (EAEC), *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *Enteroinvasive E. Coli* (EIHEC). Kebanyakan pasien dengan ETEC, EPEC, atau EAEC mengalami gejala ringan yang terdiri dari diare cair, mual, dan kejang abdomen. Diare berat jarang terjadi, dimana pasien melakukan buang air besar lima kali atau kurang dalam waktu 24 jam. Lamanya penyakit ini rata-rata 5 hari. *E. coli* dapat masuk ke dalam tubuh manusia terutama melalui konsumsi pangan yang tercemar, misalnya daging mentah, daging yang dimasak setengah matang, susu mentah, dan cemaran fekal pada air dan pangan (Zein dkk, 2004).

Sel bakteri *E. coli* dapat dengan mudah dibiakkan dalam larutan glukosa dan ion anorganik. Dalam medium ini, sel *E. coli* berkembang biak dua kali lipat pada suhu 37°C dalam waktu 60 menit. Waktu generasi ini dapat dipercepat menjadi 20 menit apabila dalam mediumnya ditambahkan basa purin, pirimidin dan asam amino (Subowo, 1995:32). *E. coli* tetap dapat tumbuh walaupun pada suatu medium hanya mengandung glukosa sebagai satu-satunya unsur organik (Campbell, Reece & Mitchell, 2003:112).



Gambar 2. *E. coli* pada media LA, inkubasi 37°C selama 24 jam
(Sumber: Doc. Hedetniemi dan Liao, 2006 “dalam” Dewi, 2010)

Klasifikasi bakteri *E.coli* menurut Arifin (2014) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

D. Materi Pembelajaran di Kelas X

Materi pembelajaran di kelas X yaitu mengenai tumbuhan biji. Diketahui bahwa tumbuhan biji merupakan golongan tumbuhan dengan tingkat perkembangan filogenetik tertinggi, yang sebagai ciri khasnya ialah adanya suatu organ yang berupa biji. (Pratiwi, Maryati, Srikini, Suharno dan Bambang, 2007).

Di Indonesia banyak sekali keanekaragaman tumbuhan biji yang saat ini mulai dikembangkan sebagai alternatif obat alami untuk menyembuhkan penyakit tertentu, salah satu contoh tumbuhan biji tersebut adalah lada hitam. Ciri-ciri morfologi tanaman lada antara lain merupakan tanaman semak belukar, herba, berbatang kecil menjalar dan bunganya majemuk berbentuk bulir dan menggantung (Muhiedin, 2008). Morfologi lada meliputi akar, batang, daun, bunga, buah dan biji (Anonim, 2013:34). Lada hitam juga memiliki salah satu bagian yang dapat digunakan sebagai obat yaitu bijinya karena di dalam biji lada hitam terdapat senyawa aktif yang termasuk ke dalam metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah bahan senyawa aktif non nutrisi yang mengontrol spesies biologi dalam lingkungan. Senyawa aktif tersebut dapat digunakan dalam pembuatan obat-obatan (Sastrohamidjojo, 1996 “dalam” Ningrum, Yeni dan Ariyati, 2013).

Lada hitam dapat menghambat bakteri *E.coli*. Dimana kita ketahui keberadaan bakteri *E. coli* pada manusia dapat bermanfaat apabila dalam jumlah yang normal. Akan tetapi dapat juga menyebabkan penyakit diare jika jumlahnya sudah melebihi batas normal. Beberapa bakteri *E. coli* patogen yang digolongkan sebagai penyebab diare, yaitu ETEC, EPEC, EAEC, EHEC, dan EIHEC (Zein, *dkk*, 2004). Saat ini telah diketahui bahwa beberapa galur *E.coli* dapat menyebabkan diare melalui dua mekanisme, yaitu: memproduksi enteroksin yang secara tidak langsung menyebabkan hilangnya cairan tubuh manusia, dan bakteri menembus

batas epitelium dinding usus sehingga peradangan usus dan hilangnya cairan tubuh (Pratiwi, *dkk*, 2007).

E. Kajian Penelitian Terdahulu Yang Relevan

Ada beberapa penelitian terdahulu yang dijadikan sebagai pendukung dalam penelitian ini, diantaranya yaitu:

1. Karsha & Lakshmi (2010) dalam penelitiannya yang berjudul “*Antibacterial activity of black pepper (Piper nigrum Linn.) with special reference to its mode of action on bacteria*” menyatakan bahwa analisis fitokimia ekstrak lada hitam menunjukkan adanya alkaloid, minyak atsiri, mono- dan polisakarida dan resin sehingga ekstrak lada hitam memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri gram positif dan negatif. Akan tetapi, bila dibandingkan antara keduanya bakteri gram positif lebih rentan terhadap ekstrak.
2. Lathifah (2008) dalam penelitiannya yang berjudul “Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan Variasi Pelarut” menyatakan bahwa uji efektifitas antibakteri ekstrak dengan pelarut aquades dapat menghambat bakteri *E.coli* dengan terbentuknya zona hambat sebesar 5,00 mm. Dan berdasarkan hasil uji senyawa aktif yang terdapat pada belimbing wuluh terdapat senyawa flavonoid dan terpenoid yang diketahui dapat menghambat *E.coli*.
3. Murwani, Dewi, dan Muliana (2011) dalam penelitiannya yang berjudul “Pemanfaatan ekstrak ethanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) Sebagai antibakteri terhadap methicillin resistant *Staphylococcus aureus (MRSA)*”

no. *Isolat m.2036.t Secara in-vitro*” menyatakan bahwa ekstrak ethanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) berpotensi sebagai antibakteri terhadap *MRSA* secara *in-vitro*. Potensi antibakteri dari ekstrak ethanol buah lada hitam (*Piper nigrum*) terhadap *MRSA*, berasal dari minyak atsiri (*eugenol* & terpenoid), flavonoid, dan alkaloid.

4. Sanarto, Hidayati, Baktian, dan Margawuni (2011) dalam penelitiannya yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Ethanol Lada Hitam (*Piper nigrum*) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ” menyatakan bahwa ekstrak lada hitam mempunyai efek antimikroba terhadap *Escherichia coli* dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) yang tidak diketahui karena tingkat kekeruhan yang relatif sama dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah 32,5% .
5. Dari beberapa penelitian di atas terdapat persamaan dan perbedaan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh penulis. Beberapa persamaannya yaitu lada hitam digunakan untuk menghambat bakteri gram negatif (*Escherichia coli*), menggunakan aquades sebagai pelarut polar yang digunakan untuk mengikat senyawa aktif dalam tanaman. Perbedaan penelitian ini yaitu pada metode yang digunakan untuk memperoleh ekstrak lada hitam yaitu menggunakan metode dekok, metode dalam penanaman bakteri menggunakan metode tuang (*pour plate*) dan untuk menentukan terdapat atau tidaknya zona hambat yang terbentuk menggunakan difusi cakram.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium MIPA IAIN Raden Fatah Palembang selama 1 bulan pada bulan April.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri, oven, autoklaf, aluminium foil, gelas ukur, erlenmeyer, corong penyaring, neraca analitik, jangka sorong, jarum ose, bunsen, pinset, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kompor pemanas, *mortar and pestle*, panci, termometer, kamera, kalkulator, kertas cakram (*Paper dish*), kertas saring, kapas, plastik, dan alat tulis.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan dekok lada hitam dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% masing-masing sebanyak 20 ml, aquades, NA (*Nutrient Agar*), *Lactose Broth* (LB), alkohol 96 %, bakteri *E.coli*.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen melalui pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan (*t*) dan tiga kali ulangan (*r*). Perlakuan dalam percobaan ini menurut Hanafiah (2012:6)

merupakan faktor kuantitas (takaran) yaitu perlakuan yang memperhitungkan takaran perlakuan X. Dalam hal ini perlakuan X yang dimaksud adalah perlakuan berupa konsentrasi dekok lada hitam.

Peneliti melakukan kombinasi konsentrasi dari penelitian sebelumnya yaitu sebesar 20%, 30%, 40%, dan 50% dan satu perlakuan kontrol dengan menggunakan aquades. Dalam hal ini peneliti melakukan perhitungan konsentrasi larutan uji ekstrak dengan cara pengenceran menggunakan larutan aquades yang digunakan dalam penelitian Surya (2012) (lampiran 2). Adapun perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Kombinasi Petak Percobaan (15 perlakuan)

Konsentrasi Ulangan	K₀	K₁	K₂	K₃	K₄
1	K ₀₁	K ₁₁	K ₂₁	K ₃₁	K ₄₁
2	K ₀₂	K ₁₂	K ₂₂	K ₃₂	K ₄₂
3	K ₀₃	K ₁₃	K ₂₃	K ₃₃	K ₄₃

Keterangan: n = 1, 2, 3

K_{0n} = Kontrol (dengan aquades) ulangan ke n

K_{1n} = Konsentrasi 20% ulangan ke n

K_{2n} = Konsentrasi 30% ulangan ke n

K_{3n} = Konsentrasi 40% ulangan ke n

K_{4n} = Konsentrasi 50% ulangan ke n

Untuk menentukan nomor petak perlakuan (daerah penempatan cawan petri) dilakukan dengan cara pengacakan dimana terdapat beberapa pola, yaitu menggunakan label bilangan teracak, menggunakan kartu atau dengan cara mengundi (Gomes, 1995). Dalam hal ini pola pengacakan dilakukan dengan cara mengundi (lampiran 1).

D. Cara Kerja

1. Persiapan dan Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara semua alat dibungkus menggunakan kertas dan disterilkan dalam autoklaf pada 121°C dengan tekanan 15 psi (per square inci) selama 15 menit. Alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi disterilkan dengan alkohol 90 % (Lathifah, 2008).

2. Pembuatan Medium *Nutrien Agar* (NA)

Menurut Ummah (2010), Pembuatan medium NA yaitu:

- a) Medium NA ditimbang sebanyak 20 gr
- b) Medium dimasukkan ke dalam Erlenmeyer lalu dicampurkan aquades sebanyak 1000 ml
- c) Sterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm
- d) Dinginkan media dan media siap dipakai.

3. Peremajaan Biakan Murni

Biakan murni bakteri diremajakan pada media Nutrien Agar yang diletakkan dalam posisi miring dengan cara menggosokkan jarum ose yang mengandung bakteri *E. coli* secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggosokkan jarum ose. Kemudian tabung reaksi ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator (Ummah, 2010).

4. Pembuatan Biakan Aktif

Satu ose hasil peremajaan biakan murni bakteri dibiakkan dalam 1 ml Laktose Broth dihomogenkan dan diinkubasi selama 24 jam. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif (Ummah, 2010).

5. Pembuatan Simplisia

Menurut Ma'mun, Suhirman, Manoi, Sembiring, Tritaningsih, Sukmasari, Gani, Tjitjah, dan Kustiwa (2006), Pembuatan simplisia meliputi 2 tahap yaitu: Persiapan bahan lada hitam dan pembuatan serbuk simplisia dari lada yang sudah dikeringkan dengan cara dihaluskan menggunakan mortar. Simplisia yang sudah hancur dimasukkan kedalam kantong plastik yang kedap udara.

6. Pembuatan Dekok

Simplisia yang sudah jadi ditimbang sebanyak 100 gr dimasukkan kedalam erlenmeyer yang kemudian di isi dengan aquades hingga 1000 ml. Kemudian labu erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dimasukkan ke dalam panci yang sudah berisi air. Panaskan pada suhu 90°C selama 30

menit terhitung setelah panci bagian bawah mulai mendidih. Setelah 30 menit labu erlenmeyer dikeluarkan dan didinginkan di udara terbuka. Hasil dekok kemudian disaring menggunakan kertas saring, sehingga akhirnya didapatkan dekok lada hitam yang siap digunakan (Surya, 2012).

7. Penanaman Bakteri

Penanaman bakteri menggunakan metode agar tuang (*pour plate method*). Menurut Harmita dan Radji (2008:127) metode agar tuang dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- a) Sediakan media NA dan kultur cair bakteri *E.coli* uji yang diencerkan menggunakan media *Lactose Broth* (LB) sebanyak 1 ml.
- b) Inokulasikan bakteri uji 1 ml dan tambahkan media NA ke dalam cawan petri ± 18-20 ml.
- c) Selama proses penuangan, tutup cawan jangan dibuka terlalu lebar untuk menghindari kontaminasi. Cawan petri digerakkan di atas meja dengan gerakan melingkar untuk menyebarkan agar dan sel mikroba secara merata. Setelah agar memadat siap dilakukan penanaman cakram.

8. Penanaman Cakram

Menurut Lathifah (2008), prosedur penanaman kertas cakram adalah sebagai berikut:

- a) Kertas cakram (*Paper dish*) diameter 5 mm direndam dalam ekstrak biji lada sesuai dengan perlakuan. Kriteria perendaman sampai *paper dish* tidak bisa lagi meresap dalam larutan selama 15 menit agar setiap

paper dish mendapat perlakuan sama pada setiap masing-masing konsentrasi yang berbeda. Kemudian ditiriskan sampai tidak ada larutan yang menetes.

- b) Kertas cakram tersebut diletakkan di atas permukaan medium agar yang sebelumnya telah ditanam bakteri *E.coli* dengan jarak 2-3 cm dari pinggir cawan petri.
- c) Cawan petri ditutup kemudian diinkubasi Selama 18-24 jam pada suhu 35-37°C.
- d) Selama inkubasi akan terlihat hambatan pertumbuhan bakteri disekitar cakram
- e) Dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk pada permukaan media.

9. Pengukuran Zona Hambat

Daya hambat antibakteri ditentukan dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona hambatan) dengan diameter cakram (Ambarwati, 2007).

Tabel 3. Tabulasi Data Hasil Pengamatan

Perlakuan (t)	Ulangan (r)			Jumlah (TA)	Rerata
	1	2	3		
K ₀	Y ₁₀	Y ₂₀	Y ₃₀	TA ₀	
K ₁	Y ₁₁	Y ₂₁	Y ₃₁	TA ₁	
K ₂	Y ₁₂	Y ₂₂	Y ₃₂	TA ₂	
K ₃	Y ₁₃	Y ₂₃	Y ₃₃	TA ₃	
K ₄	Y ₁₄	Y ₂₄	Y ₃₄	TA ₄	
Jumlah (TU)	Ti₁	Ti₂	Ti₃	Tij	

E. Analisis Data

1. Analisis Varian (ANOVA)

Data Uji daya hambat dianalisis menggunakan ANOVA (uji *F*) untuk menguji adanya pengaruh atau perbedaan antar perlakuan variasi konsentrasi dekok lada hitam terhadap pertumbuhan bakteri melalui rumus sebagai berikut (Hanafiah, 2012:36).

a) Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{rxt}$$

b) Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = T (Y_{ij}^2) - FK$$

c) Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{TA^2}{r} - FK$$

d) Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP$$

Hasil dari perhitungan tersebut disajikan ke dalam table sebagai berikut:

Tabel 4. Analisis Sidik Ragam (Ansira) RAL

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	$t-1=V_1$	JKP	$JKP/V_1=KTP$	KTP/KTG	$F(V_1, V_2)$
Galat	$(rt-1)-(t-1)=V_2$	JKG	$JKG/V_2=KTG$		
Total	$rt-1$	JKT			

KK = ...%

Sumber : (Hanafiah, 2012:38)

e) Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{\text{rerata seluruh data percobaan}} \times 100\%$$

$$\bar{y} \text{ (rerata seluruh data percobaan)} = \frac{\sum T_{ij}}{rt}$$

Keterangan:

SK = Sumber Keragaman

Y = Hasil Percobaan

DB = Derajat Bebas

i = ulangan ke i (1, 2, 3, ..., r)

JK = Jumlah Kuadrat

j = perlakuan ke j (0,1,2, ..., t)

KT = Kuadrat Tengah

r = ulangan

TA = Jumlah Perlakuan

t = perlakuan

Untuk menentukan zona hambat bakteri diantara perlakuan dilakukan dengan menggunakan Uji F, yaitu dengan membandingkan F hitung dengan F table dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Bila F hitung $>$ F 5 % maka H_1 diterima pada taraf uji 5% artinya berbeda nyata = (*significant difference*). Hal ini ditunjukkan dengan menempatkan satu bintang (*) pada nilai F hitung dalam sidik ragam.
2. Bila F hitung \leq F 5 % maka H_0 diterima pada taraf 5% artinya tidak berbeda nyata = (*non significant difference*). Hal ini ditunjukkan dengan menempatkan tanda (^m) pada nilai F hitung dalam sidik ragam.

2. Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

Setelah H_0 ditolak, maka selanjutnya ingin diketahui antar perlakuan (rata-rata) mana yang berbeda nyata, maka untuk mengetahui hal tersebut dalam hal ini dilakukan uji nilai tengah (rata-rata) antar perlakuan dengan menggunakan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) dengan rumus:

$$BNJD\alpha = P\alpha (p, v) X s\bar{y} \quad (\text{Hanafiah, 2012:81})$$

Dimana: α = Taraf nyata yang dikehendaki
 $p\alpha$ = nilai p tabel pada taraf yang dikehendaki
 v = Derajat Bebas Galat
 $S\bar{y}$ = Standar error

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

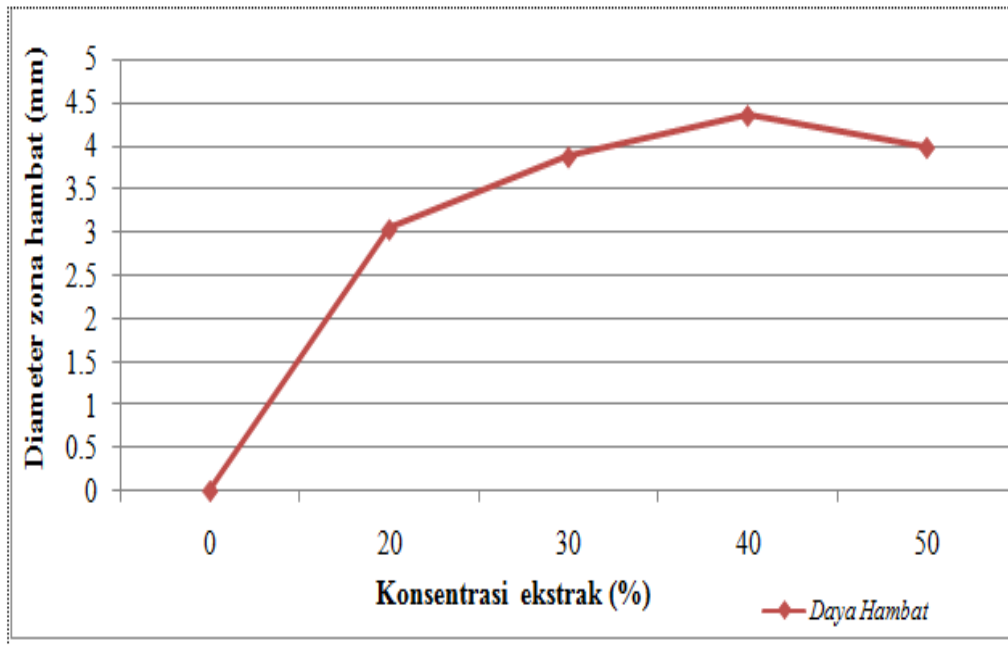
A. Hasil Penelitian

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang uji daya hambat ekstrak lada hitam terhadap bakteri *E. coli* diperoleh hasil bahwa ekstrak lada hitam pada konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% memiliki daya hambat terhadap bakteri *E. coli*. Hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Besarnya diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5. Diameter Zona Hambat (dalam mm)

Perlakuan (t)	Ulangan (r)			Rerata
	1	2	3	
K ₀ (kontrol)	0,0	0,0	0,0	0,0
K ₁ (20%)	2,3	5,4	1,4	3,03
K ₂ (30%)	3,9	3,2	4,5	3,87
K ₃ (40%)	5,9	3,95	3,2	4,35
K ₄ (50%)	4,7	4,5	2,75	3,98

Dari hasil penelitian seperti yang tertera pada tabel di atas, zona hambat yang terbentuk memiliki diameter yang berbeda. Grafik rata-rata zona hambat yang terbentuk adalah sebagai berikut:



Grafik 1. Rata-rata Diameter Zona Hambat

Dari hasil yang telah diperoleh, kemudian dilakukan analisis sidik ragam dengan pola RAL dengan lima perlakuan dan tiga kali ulangan. Adapun hasil analisis tersebut adalah sebagai berikut: (Lampiran 3)

Tabel 6. Analisis Sidik Ragam Pengaruh Ekstrak Lada Hitam Terhadap Zona Hambat *E. Coli*

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	4	37,592	9,398	5,93*	3,84
Galat	10	15,84	1,584		
Total	14	53,432			

KK = 41%

Keterangan:

* = Berbeda nyata

Berdasarkan hasil analisis di atas, ekstrak lada hitam memberikan pengaruh yang nyata terhadap bakteri *E.coli* sehingga selanjutnya untuk mengetahui perbedaan pengaruh dari masing-masing perlakuan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Jarak Nyata Duncan taraf 5% seperti pada tabel berikut:

Tabel 7. Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) pengaruh Pemberian Ekstrak Lada Hitam terhadap bakteri *E. coli*

Perlakuan	Rata-rata	Beda riil pada jarak P=				BJND 0,05
		2	3	4	5	
K ₀	0,0	-				a
K ₁	3,03	3,03	-			b
K ₂	3,87	0,84	3,87	-		b
K ₄	3,98	0,11	0,95	3,98	-	b
K ₃	4,35	0,37	0,48	1,32	4,35	b
P _{0,05 (p,10)}		3,15	3,30	3,37	3,43	
BJND _{0,05 (p,10) =}		2,30	2,41	2,46	2,50	

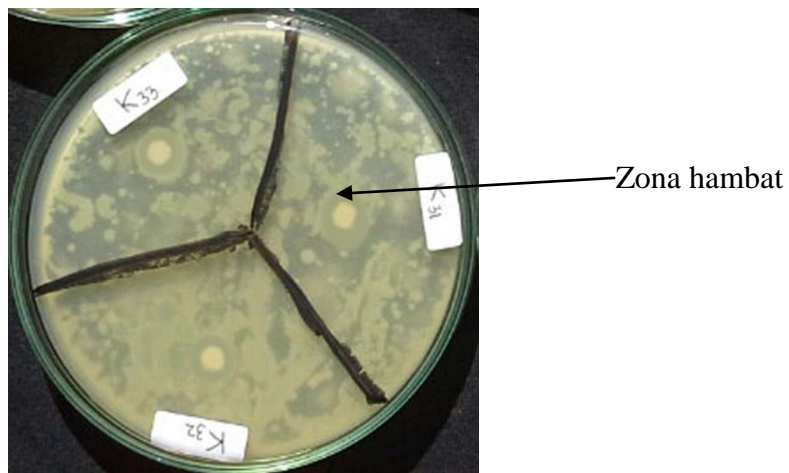
Keterangan : angka-angka yang diikuti oleh huruf dan pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata.

B. Pembahasan

Penelitian ini diawali dengan persiapan bahan utama yang akan digunakan yaitu lada hitam dan bakteri *E. coli*. Sampel lada hitam diambil dari salah satu pasar di Banjar Rejo, Kecamatan Batanghari, Lampung Timur. Sedangkan biakan bakteri *E. coli* diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang. Selanjutnya, pada tanggal 15 April 2014 dilakukan peremajaan bakteri dan kultur cair bakteri *E.coli*. Pada hari berikutnya peneliti melakukan prosedur selanjutnya yaitu pembuatan simplisia, ekstraksi lada hitam, penanaman bakteri, dan penanaman cakram. Kemudian dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk pada masing-masing perlakuan.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui ekstrak lada hitam memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *E. coli* karena terbentuk zona hambat. Menurut Bachtiar *dkk* (2012), apabila suatu tanaman memiliki zat aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri, maka zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan membentuk zona hambat.

Hasil pengukuran pada seluruh perlakuan menunjukkan diameter zona hambat yang berbeda-beda (Tabel 5). Pada K₃ (40%), memiliki nilai zona hambat sebesar 4,35 mm, yang nilainya paling tinggi dari pada K₄ (50%), K₂ (30%), dan K₁ (20%) yang masing-masing memiliki nilai secara berturut-turut 3,98 mm, 3,87 mm, 3,03 mm.



Gambar 3. Hasil Daya Hambat Ekstrak Lada Hitam pada konsentrasi 40%
(Sumber: Doc. Pribadi, 19 April 2014)

Pada konsentasi 40%, ekstak lada hitam memberikan hasil paling optimal dibandingkan dengan konsentration lainnya (Gambar 3). Penghambatan bakteri *E. coli* disebabkan oleh senyawa kimia yang berasal dari ekstrak lada hitam. Lada hitam banyak mengandung piperin dan minyak atsiri dimana senyawa ini jarang dimiliki oleh tumbuhan lainnya. Di dalam lada hitam

terdapat piperin sebanyak 5-9%. Piperin merupakan senyawa golongan alkaloid (Rismunandar, 1987). Piperin dapat digunakan sebagai antioksidan dan antidiare (Murwani *dkk*, 2012). Selain itu zat aktif lainnya berupa alkaloid, eugenol, terpenoid, dan flavonoid (Murwani *dkk*, 2011).

Mekanisme penghambatan senyawa tersebut yaitu dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein pada bakteri (Pelczar dan Chan, 2012).

Alkaloid berfungsi menghambat sintesis DNA bakteri, Mekanisme kerja dari alkaloid dihubungkan dengan kemampuannya untuk berinteraksi atau melekatkan diri diantara DNA. Adanya zat yang berada diantara DNA akan menghambat replikasi DNA itu sendiri, akibatnya terjadi gangguan replikasi DNA yang akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Hamid, Widodo, dan Latifah, 2009).

Eugenol berfungsi dengan mengganggu struktur lipid bilayer pada membran terluar bakteri dengan cara membagi-bagi lipid dan mitokondria pada membran bakteri menjadi struktur yang lebih kecil. Di samping itu, eugenol juga dapat menyebabkan kebocoran protein pada membran sel. Akibatnya terjadi kerusakan pada membran sel dan dinding sel bakteri (Murwani *dkk*, 2011).

Terpenoid bersifat lipofilik sehingga turut merusak membran sel bakteri. Flavonoid merupakan fenol terbesar, flavonoid dapat larut dalam air dan pelarut polar. Flavonoid dikenal sebagai antioksidan, selain itu senyawa ini telah dilaporkan memiliki efek sebagai antibakteri (Harborne, 1987

“dalam” Ningrum *dkk*, 2013). Cara kerja senyawa fenol adalah dengan menyebabkan koagulasi atau penggumpalan protein. Protein yang telah menggumpal mengalami denaturasi dan dalam keadaan demikian protein tidak berfungsi lagi (Dwijoseputro, 2005). Selain itu, menurut Pelczar & Chan (2012) fenol bekerja terutama dengan cara denaturasi protein sel dan merusak membran sel. Volk & wheeler (1993) “dalam” Ningrum *dkk* (2013), menyatakan bahwa membran sitoplasma tersusun terutama dari protein dan lemak, membran tersebut rentan terhadap fenol. Fenol dapat menurunkan tegangan permukaan. Apabila digunakan dalam konsentrasi tinggi fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma secara total dan mengendapkan protein. Dalam konsentrasi rendah fenol dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sejumlah sistem enzim bakteri.

Selain itu, lada hitam juga mengandung saponin (Sanarto *dkk*, 2011). Saponin banyak dijumpai pada tumbuhan, mempunyai sifat seperti sabun atau deterjen, larut dalam air, lemak dan pelarut polar. Saponin memiliki efek antibakteri (Davidson “dalam” Ningrum *dkk*, 2013). Menurut Karlina *et al.* (2013) “dalam” Prawira, Sarwiyono dan Surjowardojo (2013), bahwa saponin dapat menekan pertumbuhan bakteri, karena senyawa tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah atau lisis. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan masuk dengan mudah kedalam sel

dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri.

Pada Grafik 1 dapat dilihat terjadi penurunan zona hambat pada konsentrasi maksimal. Penurunan diameter zona hambat ini disebabkan beberapa faktor yaitu jumlah mikroorganisme, spesies mikroorganisme, resistensi non genetik dan pH lingkungan.

Jumlah mikroorganisme yaitu banyaknya populasi bakteri yang terdapat pada media, pada K₃ jumlah populasinya lebih sedikit dibandingkan dengan K₄ (Gambar 12), sehingga diperlukan waktu yang lebih banyak untuk menghambat atau membunuh populasi tersebut. Spesies mikroorganisme, menunjukkan kerentanan yang berbeda-beda terhadap antibakteri, dimana pada spesies pembentuk spora sel vegetatif yang sedang tumbuh lebih mudah dibunuh dibandingkan dengan sporanya. Sesungguhnya spora bakteri adalah yang paling resisten di antara semua organisme hidup dalam hal kemampuan untuk bertahan hidup.

Resistensi non genetik yaitu bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivasi metabolik) biasanya keadaan ini tidak dipengaruhi oleh antibakteri. Apabila bakteri berubah menjadi aktif kembali, maka bakteri kembali bersifat sensitif terhadap antibakteri seperti semula (Ganiswarna, 2003 “dalam” Lathifah, 2008). pH lingkungan, mikroorganisme yang terdapat pada bahan dengan pH asam dapat dibasmi pada suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan mikroorganisme yang sama di dalam lingkungan basa.

Menurut Pelczar dan Chan (2012), banyak faktor yang mempengaruhi kerja antimikrobia yaitu diantaranya, konsentrasi atau intensitas zat antimikrobia, jumlah mikroorganisme, suhu, spesies mikroorganisme, adanya bahan organik dan pH lingkungan.

Sedangkan pada pelakuan kontrol (K_0) yang dijadikan pembandingan konsentrasi ekstrak lada hitam tidak memiliki nilai daya hambat. Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan juga memiliki potensi menghambat bakteri. Kontrol negatif yang digunakan adalah aquades dan berdasarkan hasil penelitian ini aquades tidak memiliki sifat menghambat bakteri uji karena tidak terbentuk zona bening disekitar cakram, sehingga zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi murni dari ekstrak lada hitam, tidak ada pengaruh dari pelarut.

Daya hambat ekstrak lada hitam terhadap bakteri *E. coli* dikategorikan sedang, sesuai dengan pernyataan Pan *et al.* (2009) “dalam” Maghriby *dkk* (2014) bahwa dalam menentukan kategori zona hambat seperti pada Tabel 1, apabila diameter zona hambat sebesar 3-6 mm respon hambatan terhadap pertumbuhan bakteri dikategorikan sedang.

Berdasarkan hasil analisis ragam pada Tabel 6 menunjukkan pemberian ekstrak lada hitam dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap bakteri *E. coli*. Kemudian dari hasil uji lanjut pada Tabel 7 diketahui konsentrasi ekstrak lada hitam K_1 (20%), K_2 (30%), K_3 (40%) dan K_4 (50%) tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan K_0 .

C. Sumbangsih pada Pembelajaran di SMA/MA

Penelitian tentang uji daya hambat ekstrak lada hitam terhadap bakteri *E.coli* ini akan dialokasikan pada kegiatan pembelajaran di sekolah khususnya SMA/MA kelas X semester ganjil pada materi tumbuhan biji yang membahas tentang peranan tumbuhan biji bagi kehidupan manusia. Dimana di sini lada hitam merupakan salah satu contoh tumbuhan biji yang dapat menghambat bakteri *E.coli*. Jadi, penelitian ini berguna untuk pengembangan kegiatan pembelajaran baik teori maupun kegiatan praktikum siswa, dimana praktikum merupakan kegiatan praktek secara langsung yang dilaksanakan di laboratorium dengan peralatan tertentu dengan tujuan memberikan kesempatan pada siswa untuk menerapkan dan mengintegrasikan pengetahuan dan keterampilan yang dimilikinya secara nyata dalam praktek (Rustaman, 2013).

Keberhasilan seorang guru dalam pembelajaran sangat diharapkan, untuk memenuhi tujuan tersebut diperlukan suatu persiapan yang matang. Suparno (2002), mengemukakan sebelum guru mengajar (tahap persiapan) seorang guru diharapkan mempersiapkan bahan yang mau diajarkan, mempersiapkan alat-alat peraga/praktikum yang akan digunakan, mempersiapkan pertanyaan dan arahan untuk memancing siswa aktif belajar, mempelajari keadaan siswa, mengerti kelemahan dan kelebihan siswa, serta mempelajari pengetahuan awal siswa, kesemuanya ini akan terurai pelaksanaannya di dalam perangkat pembelajaran.

Chotimah (2010), mengemukakan bahwa perangkat pembelajaran yang dapat dikembangkan antara lain: Silabus, Rencana pelaksanaan

pembelajaran (RPP), lembar kerja yang digunakan untuk mengetahui keterampilan proses siswa dalam pembelajaran, Bahan ajar, dan media pembelajaran. Untuk itu dalam penelitian ini memberikan sumbangsih berupa perangkat pembelajaran yang dapat digunakan dalam kegiatan pembelajaran meliputi silabus pembelajaran, Rencana Pelaksanaan Pembelajaran (RPP), materi pengayaan dan lembar eksperimen (Lampiran 4).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapat simpulan sebagai berikut:

1. Berdasarkan *analysis of varian* (ANOVA), konsentrasi ekstrak lada hitam memberikan perbedaan nyata pada taraf 5% terhadap bakteri *Escherichia coli*, dimana F hitung > F tabel yaitu $5,93 > 3,84$.
2. Konsentrasi optimum pemberian ekstrak lada hitam terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah pada perlakuan K₃ (40%) yaitu sebesar 4,35 mm.

B. Saran

Adapun saran yang ingin disampaikan dalam penelitian ini berkaitan dengan penelitian selanjutnya dimana:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui persentase masing-masing zat aktif yang terdapat pada lada hitam.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui zat aktif apa yang paling berpotensi sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Alqur'anul Karim. 2010. *Alqur'an dan Terjemahannya*. Bandung: CV Penerbit Diponegoro.
- Ambarwati. 2007. Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Biodiversitas ISSN: 1412-033X Volume 8, Nomor 3 Tahun 2007: 320-325*.
- Arifin, M. 2014. *Indonesia Public Health Information*. (Online). (<http://publichealth-journal.helpingpeopleideas.com/escherichia-coli>). Diakses 5 Maret 2014.
- Bachtiar, S.Y., Wahyu T., dan Nanik S. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum* sp.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Malang: Universitas Airlangga. *Journal of Marine and Coastal Science, vol.1(1), 2012: 53 – 60*.
- Campbell, N.A., Jane B.R., & Lawrence G.M. 2003. *Biologi*. Edisi kelima jilid 2. Jakarta: Erlangga.
- Chotimah, N. 2010. *Pengembangan Perangkat Pembelajaran bervisi SETS Materi Sistem Koordinasi*. Semarang: Universitas Negeri Semarang. (Online). (<http://e-jurnal.ikipgrismg.ac.id/index.pdf>). Diakses 4 Juli 2014.
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* Linn.) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Surakarta: Universitas Sebelas Maret. *Skripsi*.
- Dwijoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan
- Gomez, K.A., dan Arturo A.G. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. Jakarta: UI Press
- Hamid, A.B., Widodo, dan Latifah D. 2009. *Perbandingan efektivitas antimikroba dekok daun sirih hijau (Piper betle) Dan dekok daun sirih merah (Piper crocatum) terhadap Staphylococcus aureus Secara in vitro*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim (Online). (http://old.fk.ub.ac.id/artikel./file_download/kedokteran.pdf). Diakses 3 Januari 2014.
- Hanafiah, K.A. 2012. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Harmita dan Maksum R. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Jakart: EGC.

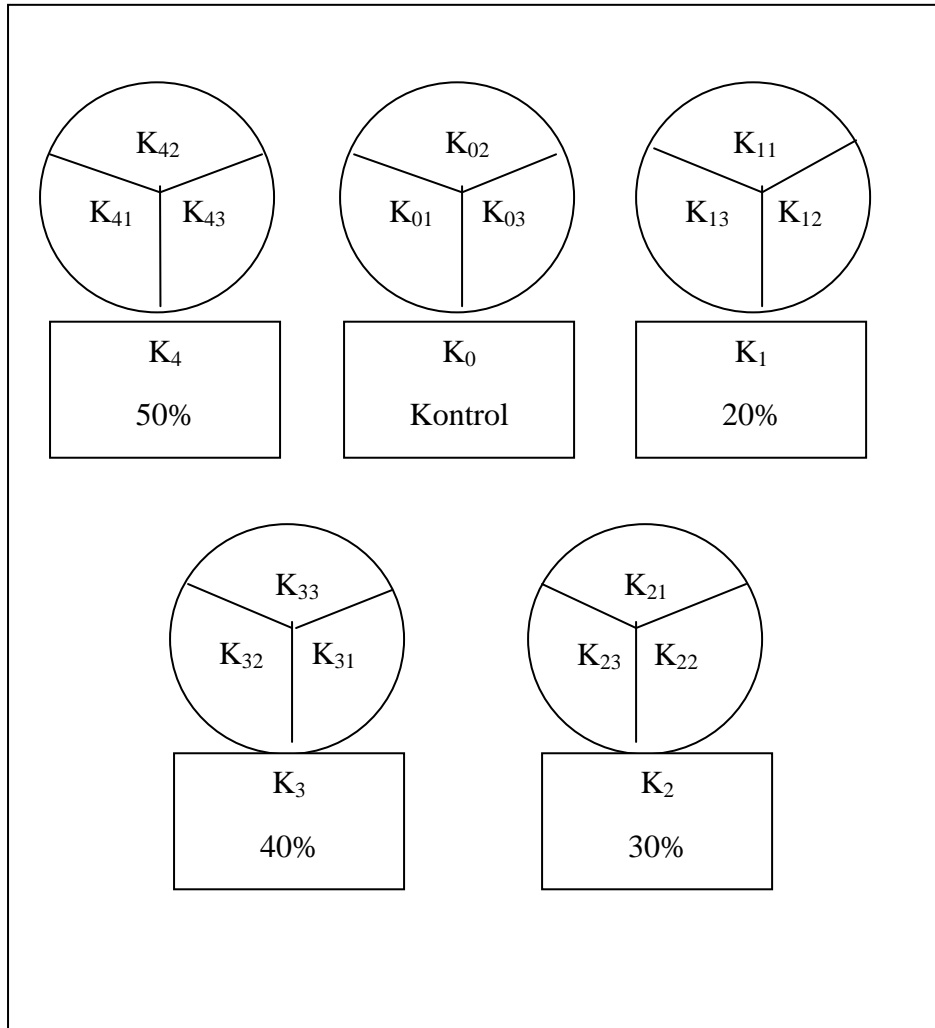
- Hegarpramastya. 2011. *Ekstraksi*. Dalam <http://Hegarpramastya.files.wordpress.com>. Diakses 6 Februari 2014.
- Inayati, H. 2007. *Pencemaran Air*. Dalam <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle.pdf>. Diakses 3 Januari 2014.
- Kanisius, A.A. 1980. *Bercocok Tanam Lada*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Karsa, P.V & O Bhagya L. 2010. Antibacterial activity of black pepper (*Piper nigrum* Linn.) with special reference to its mode of action on bacteria. India: Departement of Microbiology. *Indian Journal of Natural Products and Reources vol.1. Juni 2010:213-215*.
- Lathifah, Q.A. 2008. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Variasi Pelarut. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. *Skripsi*.
- Ma'mun, S. Suhirman, F. Manoi, B.S, Sembiring, Tritaningsih, M. Sukmasari, A. Gani, Tjitjah F, dan D Kustiwa. 2006. Teknik Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Purwoceng. *Laporan Pelaksanaan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Tahun 2006*.
- Muhiedin, F. 2008. Efisiensi Proses Ekstraksi Oleoresin Lada Hitam Dengan Metode Ekstraksi Multi Tahap. Malang: Universitas Brawijaya. *Skripsi*.
- Murwani, S., Safrina D., dan Yohanes M. 2011. *Pemanfaatan ekstrak ethanol buah lada hitam (Piper nigrum) Sebagai antibakteri terhadap Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) no. Isolat m.2036. Secara invitro*. Malang: Universitas Brawijaya (Online). (<http://old.fk.ub.ac.id/artikel./file/download/kedokteran.pdf>). Diakses 3 Januari 2014.
- Murwani, S., Yully E., dan Anita Y. 2012. *Uji efek antifungi ekstrak ethanol buah lada hitam (Piper nigrum Linn.) Terhadap pertumbuhan Candida albicans penyebab kandidiasis oral secara in vitro*. Malang: Universitas Brawijaya (Online) . (<http://old.fk.ub.ac.id/artikel.id>). Diakses 3 Januari 2014.
- Ningrum, H.P., Laili F.Y., dan Eka A. 2013. *Uji Daya Antibakteri Ekstrak Sawo Manila Terhadap E.coli dan Implementasinya dalam Pembelajaran Peranan Bakteri*. (Online). (<http://jurnal.untan.ac.id>). Diakses 3 Januari.
- Nurawan, A., Yati H., dan Hasmi B. 2005. *Lada (Piper nigrum Linn.) Sebagai Salah Satu Pangan Fungsional penghasil Devisa*. Jawa Barat: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian.
- Prawira, M.Y., Sarwiyono, dan Surjowardojo P. 2013. *Daya hambat dekok daun kersen (Muntingia calabura l.) Terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus penyebab penyakit mastitis pada sapi perah*.

- Malang: Universitas Brawijaya. (Online). <http://fapet.ub.ac.id/wp-content/upload/2013/4.pdf>. Diakses pada 2 Mei 2014.
- Pelczar, Jr.M.J. dan E.C.S Chan. 2012. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. (Jilid 2). Jakarta : UI Press.
- Pratiwi, D.A, Maryati S, Srikini, Suharno, Bambang S. 2007. *Biologi untuk SMA kelas X*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Rismunandar. 1987. *Lada budidaya dan tata niaganya*. Penebar Swadaya.
- Rustaman, A. 2013. *Pengembangan Praktikum Biologi Sekolah*. Dalam <http://file.upi.edu/Direktori.pdf>. Diakes pada 4 Mei 2014.
- Sanarto, S., Nurul H., Indah B., dan Restu M. 2011. *Uji Efektivitas Ekstrak Lada Hitam (Piper nigrum) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri Escherichia coli*. Malang: Universitas Brawijaya. (Online). (<http://old.fk.ub.ac.ad/artikel/id.pdf>). Diakses 6 Januari 2014.
- Simanjuntak, M. 2008. Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Ekstrak Daun Tumbuhan Seduduk (*Melaston malabathricun*. L.) Serta Pengujian Efek Sediaan Krim Terhadap Penyembuhan Luka Bakar. Medan: Universitas Sumatera Utara. *Skripsi*.
- Subowo. 1995. *Biologi Sel*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Suparno, P. 2001. *Teori Perkembangan Kognitif Jean Piaget*. Yogyakarta: Kanisus
- Surya, V. 2012. *Uji Potensi Dekok Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) Sebagai Insektisida Nyamuk Culex sp. Dewasa Dengan Metode Elektrik*. Malang: Universitas Brwijaya. (Online). (<http://old.fk.ub.ac.id>). Diakses 19 Februari 2014.
- Tim Karya Tani Mandiri. 2013. *Pedoman Bertanam Lada*. Bandung: Nuansa Aulia.
- Tjitrosoepomo, G. 2010. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ummah, M.K. 2010. Ekstraksi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Kajian Variasi Pelarut). Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.*Skripsi*.
- Umniatie, M.K. 2011. *Cara Mengekstraksi Tanaman dengan Metode Dekokta*. Dalam [www.scribd.com/doc/58536011/ Cara-Mengekstraksi-Tanaman-dengan-Metode-Dekokta](http://www.scribd.com/doc/58536011/Cara-Mengekstraksi-Tanaman-dengan-Metode-Dekokta). Diakses pada 17 Maret 2014.

Zein, U., Khalid H. S., dan Josia G. 2004. Diare Akut disebabkan Bakteri. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara. *e-USU Repository* ©2004 Universitas Sumatera Utara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambaran Penempatan Perlakuan



Gambar 4. Denah Penempatan cawan petri (Penataan RAL) di dalam oven

Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Ekstrak dan Pembuatan Media

a. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Ekstrak

Dari larutan ekstrak yang didapat dengan metode dekok yaitu sebanyak 500 ml sebagai larutan stok dengan konsentrasi 100%. Larutan stok ekstrak lada hitam akan diencerkan dengan aquades sehingga didapatkan konsentrasi yang diinginkan dengan menggunakan rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan :

M_1 : Konsentrasi larutan stok ekstrak lada hitam

M_2 : Konsentrasi larutan ekstrak lada hitam yang diinginkan

V_1 : Volume larutan stok yang harus dilarutkan

V_2 : Volume larutan perlakuan yang diperlukan

1. Konsentrasi 20% : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$100\% \times V_1 = 20\% \times 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{20\% \times 20 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

Jadi, untuk konsentrasi 20% = 4 ml ekstrak lada hitam diencerkan dengan aquades sebanyak 16 ml.

2. Konsentrasi 30% : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$100\% \times V_1 = 30\% \times 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{30\% \times 20 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V_1 = 6 \text{ ml}$$

Jadi, untuk konsentrasi 30% = 6 ml ekstrak lada hitam diencerkan dengan aquades sebanyak 14 ml.

3. Konsentrasi 40% : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$100\% \times V_1 = 40\% \times 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{40\% \times 20 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V_1 = 8 \text{ ml}$$

Jadi, untuk konsentrasi 40% = 8 ml ekstrak lada hitam diencerkan dengan aquades sebanyak 12 ml.

4. Konsentrasi 50% : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$100\% \times V_1 = 50\% \times 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{50\% \times 20 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

Jadi, untuk konsentrasi 50% = 10 ml ekstrak lada hitam diencerkan dengan aquades sebanyak 10 ml.

B. Pembuatan Media

1. Media *Nutrient Agar* (NA)

Komposisi:

Pepton From Meat	5,0
Meat Extract	3,0
Agar-agar	12

Cara pembuatannya adalah 20 gram NA dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades dan dipanaskan sampai mendidih menggunakan *hotplate*. Kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan ditutup dengan kapas.

2. Media *Lactose broth* (LB)

Komposisi:

Pepton	5,0
Meat Extract	3,0
Lactose	5,0

Cara pembuatannya adalah 13 gram LB dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades dan dipanaskan sampai mendidih menggunakan *hotplate*. Kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan ditutup dengan kapas.

Lampiran 3. Pengolahan Data Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Lada Hitam terhadap Bakteri *E. coli*

Tabel 8. Data Diameter Zona Hambat pada Seluruh Perlakuan (dalam mm)

No	Perlakuan (t)	Ulangan (r)			Jumlah (TA)	Rerata
		1	2	3		
1	K ₀	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	K ₁	2,3	5,4	1,4	9,1	3,03
3	K ₂	3,9	3,2	4,5	11,6	3,87
4	K ₃	5,9	3,95	3,2	13,05	4,35
5	K ₄	4,7	4,5	2,75	11,95	3,98
	Jumlah (TU)	16,8	17,05	11,85	45,7	15,23

Perhitungan Analisis Data

1. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= (45,7)^2 / 3 \times 5 \\
 &= 2088,49 / 15 \\
 &= 139,233
 \end{aligned}$$

2. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$\begin{aligned}
 JKT &= (2,3)^2 + (5,4)^2 + (1,4)^2 + (3,9)^2 + (3,2)^2 + (4,5)^2 + (5,9)^2 + (3,95)^2 + \\
 &\quad (3,2)^2 + (4,7)^2 + (4,5)^2 + (2,75)^2 - FK \\
 &= (5,29) + (29,16) + (1,96) + (15,21) + (10,24) + (20,25) + (34,81) + \\
 &\quad (15,6025) + (10,24) + (22,09) + (20,25) + (7,5625) - 139,233 \\
 &= 192,665 - 139,233 \\
 &= 53,432
 \end{aligned}$$

3. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= (9,1)^2 + (11,6)^2 + (13,05)^2 + (11,95)^2 / 3 - \text{FK} \\ &= (82,81) + (134,56) + (170,3025) + (142,8025) - 139,233 \\ &= 530,475 / 3 - 139,233 \\ &= 176,825 - 139,233 \\ &= 37,592 \end{aligned}$$

4. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$\begin{aligned} \text{JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 53,432 - 37,592 \\ &= 15,84 \end{aligned}$$

5. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) dan Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$\begin{aligned} \text{KTP} &= \text{JKP} / V_1 \\ &= 37,592 / 4 \\ &= 9,398 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KTG} &= \text{JKG} / V_2 \\ &= 15,84 / 10 \\ &= 1,584 \end{aligned}$$

6. F hitung

$$\begin{aligned} \text{F hitung} &= \text{KTP} / \text{KTG} \\ &= 9,398 / 1,584 \\ &= 5,93 \end{aligned}$$

7. Koefisien Keragaman (KK)

$$\begin{aligned} \text{KK} &= \frac{\sqrt{1,584}}{3,05} \times 100\% \\ &= \frac{1,26}{3,05} \times 100\% \\ &= 0,41 \times 100\% \\ &= 41\% \end{aligned}$$

8. Uji Beda Jarak Nyata Ducan (BJND)

a. Menyusun rata-rata data perlakuan menurut rangkingnya

Perlakuan	Rerata (mm)
K ₀	0,0
K ₁	3,03
K ₂	3,87
K ₄	3,98
K ₃	4,35

b. Menghitung standar eror

$$\text{KTG} = 1,584$$

$$\text{DBG} = 10$$

$$r = 3$$

$$\begin{aligned} S\bar{y} &= \sqrt{\frac{\text{KTG}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{1,584}{3}} \\ &= 0,73 \end{aligned}$$

c. Mencari angka RP (p,v) pada tabel Duncan

P	2	3	4	5
RP 5%	3,15	3,30	3,37	3,43

d. Mencari $SSD/BJND = RP \times S\bar{y}$

P	2	3	4	5
RP 5%	3,15	3,30	3,37	3,43
SSD	2,30	2,41	2,46	2,50

e. Membandingkan setiap rata-rata perlakuan dengan SSDnya masing-masing

Tabel 9. Hasil Uji Lanjut BJND 5%

Perlakuan	Rata-rata	Beda riil pada jarak P=				BJND
		2	3	4	5	
K ₀	0,0	-				A
K ₁	3,03	3,03	-			B
K ₂	3,87	0,84	3,87	-		B
K ₄	3,98	0,11	0,95	3,98	-	B
K ₃	4,35	0,37	0,48	1,32	4,35	B
P _{0,05 (p,10)}		3,15	3,30	3,37	3,43	
BJND _{0,05 (p,10) =}		2,30	2,41	2,46	2,50	

Keterangan : angka-angka yang diikuti oleh huruf dan pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata.