

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923 SECARA DILUSI**



Oleh:


**Rika Purwaningrum
19133974 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923 SECARA DILUSI**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*



Oleh:

**Rika Purwaningrum
19133974 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHANSKRIPSI

PENGESAHAN SKRIPSI

Dengan judul :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923 SECARA DILUSI**

Oleh:

**Rika Purwaningrum
19133974 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 04 Juli 2018



Dekan

Prof. Dr. R. A. Octari, SU., MM., M.Sc., Apt

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Pembimbing Utama



Iswandi, M.Farm., Apt.

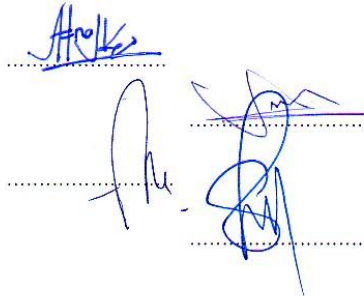
Pembimbing Pendamping



Sunarti, M.Sc, Apt.

Penguji:

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si.
2. Drs. Mardiyono, M.Si.
3. Ghani Nurfiana FS., M.Farm., Apt
4. Iswandi, M.Farm., Apt.



PERSEMBAHAN



“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai dari (sesuatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya Tuhanmulah hendaknya kamu berharap” (Q.S. Al-Insyirah : 6-8)

Mengapa semua butuh proses ?

Karena disetiap proses terdapat pembelajaran,

Jika dipercepat, Allah ingin kira bersyukur

Jika dipercepat, Allah ingin kita bersabar.

Kupersembahkan Skripsi ini untuk :

- ❖ Allah SWT yang telah memudahkan semua urusan dan meridhai segala usahaku.
- ❖ Kedua orangtua kandungku dan kedua orangtua angkatku (Papa Bambang dan Mama arumani, dan Ayah Timan dan Mommy Indah), eyang uti tersayang (Surip sumi), adikku (Muhammad Rendi), dan keluarga yang namanya tidak bisa disebut satu persatu.
- ❖ Kedua orangtua baruku di magetan (Bapak Suryono, Ibu Iin sainem) yang sudah melahirkan putra istimewa dalam hidup saya.
- ❖ Tunanganku (Jecky setia nugraha) yang selalu ada dan tidak pernah pergi saat menemani suka dan dukaku menuju gelar sarjana ini.
- ❖ Dosen pembimbingku Bapak Iswandi dan Ibu Sunarti, terima kasih telah sabar dan ikhlas meluangkan waktu dan perhatiannya dalam memberikan ilmu, nasehat, serta bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
- ❖ Teman-temanku (Wiwin, Marwan, Lilik, Fani), pengurus laboratorium mikrobiologi (Pak Joko, Pak Hendrikus, Ibu Marsi) yang sudah sering membantu dalam praktek, teman-teman kontrakanku (May, Dita, Adek Nure) yang sudah sering direpotkan, teman-teman seperjuangan FKK,FSTOA terima kasih atas do'a semangat, dukungan dan kerjasamanya.
- ❖ Almamaterku Fakultas Farmasi USB 2013, Agama, Bangsa, dan Negara.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 25 juni 2018



Rika Purwaningrum

KATA PENGANTAR

Assalammu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirobbil'allamin. Segala puji dan syukur ku panjatkan kehadirat Allah SWT, yang selalu melindungi, memberi petunjuk dan rahmat-nya dalam setiap langkah hidupku, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **"UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN DAUN UNGU (*Graptophylluempictym* (L.) Griff) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA DILUSI"**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh derajat sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak mungkin terlaksana tanpa adanya bantuan baik moral dan spiritual dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih yang sedalamnya terutama kepada :

1. Allah SWT yang selalu memberikan rahmat, hidayah, dan riski-Nya serta kesehatan kepada penulis sehingga penulis dapat memberikan yang terbaik.
2. Dr.Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc.,Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Iswandi, M.Farm.,Apt, selaku pembimbing utama skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, mengarahkan serta bersikap sangat sabar dan tulus ikhlas sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Sunarti, M.Sc,Apt, selaku pembimbing pendamping skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Lucia Vita Inandha D, S.Si. M.Sc.,Apt, selaku pembimbing akademik yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dengan sabar untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dalam proses menuju sarjana.

7. Bapak dan ibu dosen, beserta seluruh staf akademik, staf tata usaha, dan staf karyawan fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
8. Kedua orang tua kandung penulis (Bapak Bambang Purwantoro dan Ibu Arumani) yang selalu memberikan kasih sayang, nasehat, bimbingan, dan doanya sehingga terselesaikan skripsi ini.
9. Kedua orang tua angkat penulis (Ayah Timan dan Mommy Indah) yang selalu memberikan kasih sayang, nasehat, bimbingan, dan doanya sehingga terselesaikan skripsi ini.
10. Adikku tersayang (Muhammad Rendi) yang sudah memberikan dukungan dan doanya kepada penulis sehingga terselesaikannya skripsi ini.
11. Kedua orangtua baruku di magetan (Bapak Suryono, Ibu Iin sainem) yang sudah melahirkan putra istimewa dalam hidup saya yaitu tunanganku (Jecky setia nugraha) yang selalu ada dan tidak pernah pergi saat menemani suka dan dukaku menuju gelar sarjana ini.
12. Seluruh teman-teman Teori FKK FTOA, teman-teman praktek dan team skripsi (Wiwin, Warwan, Fani, Lilik, Sari, Wiwin, Cindy, Kyki), teman-teman kontrakan (May, Dita, Adek Nure), adik angkatku di kampus (Nissya), dan adik-adik tersayang yang sudah baik dalam perkuliahan yang selalu semangat dan kompak.
13. Mas rudy beserta istri dan karyawannya yang telah welcome, sabar dan selalu baik membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
14. Rekan-rekan KKN kelompok 1 (Janson, Bimo, Kurniawan, Shinta, Elis, Shofia, Jawi, Lita, Anggi, Nobita, Lutfi, Feronica, Melly, Lia, Carla) terima kasih atas semangat, doa, dan segalanya.
15. Teman-teman sejawat di Apotek Mulia Farma yang telah menemani bekerja selama 2 tahun yang banyak memberikan ilmunya, dan tempat curhat.
16. Pihak-pihak lain yang membantu dalam penyelesaian skripsi yang tidak sempat saya tuliskan namanya terima kasih atas bantuannya.

Harapan dan doa penulis semoga semua amal kebaikan dan jasa-jasa dari semua pihak yang membantu hingga terselesaikannya skripsi ini di terima Allah SWT serta mendapatkan balasan yang lebih baik dan berlipat ganda.

Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini kurang sempurna yang disebabkan keterbatasan kemampuan penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik konstruktif dari pembaca demi sempurnanya skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat nyata bagi penulis khususnya dan para pembaca umumnya.

Surakarta, 25 Juni 2018

Penulis

Rika Purwaningrum

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Sirsak.....	4
1. Sistematika tanaman sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	4
2. Nama lain.....	4
3. Morfologi tanaman	5
4. Kandungan kimia	5
4.1. Alkaloid.	5
4.2. Flavonoid.	6
4.3. Saponin	6
4.4. Polifenol.....	6
5. Kegunaan tanaman	6
B. Tanaman Daun Ungu	7
1. Sistematika tanaman ungu (<i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff)	7
2. Nama lain.....	7
3. Morfologi tanaman	7

4.	Kandungan kimia	8
4.1	Flavonoid.....	8
4.2	Alkaloid.....	8
4.3	Saponin.....	8
4.4	Tanin.....	9
4.5	Steroid.....	9
5.	Kegunaan daun ungu	9
6.	Efek Kombinasi obat	10
C.	Simplisia	10
D.	Metode Penyarian	11
1.	Pengertian ekstraksi.....	11
2.	Maserasi.....	11
3.	Pelarut.....	12
E.	Kromatografi Lapis Tipis	12
F.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	13
1.	Sistematika bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.	Morfologi dan Fisiologi.....	13
3.	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
G.	Antibakteri.....	16
1.	Definisi	16
2.	Mekanisme kerja antibakteri.....	16
3.	Uji aktivitas antibakteri	18
H.	Media.....	18
1.	Definisi media	18
2.	Macam-macam media	19
2.1.	Media padat.....	19
2.2.	Media setengah padat.....	19
2.3.	Media cair.....	19
I.	Antibakteri.....	19
1.	Menghambat sintesis dinding sel	20
2.	Menghambat metabolisme sel bakteri.....	20
3.	Meningkatkan permeabilitas membrane sel bakteri.....	20
4.	Menghambat sintesis protein sel bakteri	20
5.	Menghambat sintesis asam nukleat dan protein.....	20
6.	Antagonisme	21
7.	Sinergisme	21
J.	Sterilisasi	21
K.	Landasan Teori.....	22
L.	Hipotesis	23
M.	Kerangka Pikir	24
BAB III	METODE PENELITIAN	25
A.	Populasi dan Sampel	25
1.	Populasi	25
2.	Sampel	25
B.	Variabel Penelitian.....	25

1.	Identifikasi variabel utama	25
2.	Klasifikasi variabel utama	25
3.	Definisi operasional variabel utama	26
C.	Alat dan Bahan.....	27
1.	Alat	27
2.	Bahan.....	28
D.	Jalannya Penelitian.....	28
1.	Determinasi tanaman	28
2.	Pembuatan serbuk	28
3.	Penetapan susut pengeringan	28
4.	Pembuatan ekstrak etanol 96%	29
4.1	Ekstrak etanol daun sirsak.	29
4.2	Ekstrak etanol daun ungu.	29
4.3	Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu 1:1.	29
4.4	Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu 1:3.	29
4.5	Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu 3:1	30
5.	Uji bebas etanol daun sirsak dan daun ungu.....	30
6.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirsak dan daun ungu	30
6.1	Flavonoid.	30
6.2	Tannin.....	31
6.3	Alkaloid.	31
6.4	Saponin.	31
7.	Sterilisasi alat dan media	31
8.	Pembuatan suspensi bakteri.....	31
9.	Identifikasi bakteri.....	32
9.1	Identifikasi morfologi.....	32
9.2	Identifikasi mikroskopis pewarnaan Gram.....	32
9.3	Uji katalase.	32
9.4	Uji koagulase.	33
10.	Pembuatan suspensi bakteri uji	33
11.	Uji antibakteri secara dilusi	33
E.	Analisis Hasil.....	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		37
1.	Determinasi Tanaman.....	37
2.	Pembuatan Simplisia	38
2.1.	Perhitungan susut pengeringan.	39
3.	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak dan Daun Ungu.....	39
4.	Uji bebas etanol.....	40
5.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu secara Kromatografi Lapis Tipis KLT	41
6.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	42

6.1. Identifikasi morfologi <i>S. aureus</i>	42
7. Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	51
A. Kesimpulan.....	51
B. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Foto Tanaman Sirsak.....	4
Gambar 2. Tanaman Daun Ungu.....	7
Gambar 3. Kerangka pikir.....	24
Gambar 4. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu dengan metode maserasi.	34
Gambar 5. Skema jalannya penelitian	35
Gambar 6. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) dan serbuk daun ungu (<i>Graptophylluempictym</i> (L). Griff)	36
Gambar 7. Hasil dengan menggunakan media selektif <i>Vogel Johnson Agar</i>	42
Gambar 8. Pewarnaan bakteri Gram positif yaitu <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Gambar 9. Hasil koagulase	43
Gambar 10. Hasil katalase	44
Gambar 11. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi	49
Gambar 12. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi pada media VJA.....	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perhitungan rendemen bobot susut pengeringan daun sirsak dan daun ungu	38
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan serbuk ungu.....	39
Tabel 3. Rendemen ekstrak daun sirsak dan daun ungu	40
Tabel 4. Hasil Uji bebas etanol	41
Tabel 5. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri tunggal ekstrak etanol daun sirsak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi	45
Tabel 6. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri tunggal ekstrak etanol daun ungu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi.....	45
Tabel 7. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi 1:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi	46
Tabel 8. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi 1:3 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi	46
Tabel 9. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi 3:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan	59
Lampiran 2. Perhitungan persentase bobot kering daun sirsak segar dan daun ungu segar	61
Lampiran 3. Penetapan susut pengeringan	61
Lampiran 4. Perhitungan persentase rendemen hasil ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu	62
Lampiran 5. Pembuatan kontrol negatif DMSO 1%	63
Lampiran 6. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirsak tunggal dan daun ungu tunggal	63
Lampiran 7. Gambar daun sirsak dan serbuk daun ungu	64
Lampiran 8. Gambar inkas, penggilingan serbuk, <i>moisture balance</i> , timbangan analitik, ayakan no 40, botol maserasi, evaporator, oven, inkubator.	65
Lampiran 9. Hasil ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu tunggal dan kombinasi.....	67
Lampiran 10. Hasil uji bebas etanol ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu tunggal	69
Lampiran 11. Hasil identifikasi <i>S. aureus</i> ATCC 25923	70
Lampiran 12. Dilusi ekstrak daun sirsak dan daun ungu tunggal dan kombinasi.....	75
Lampiran 13. Inokulasi hasil dilusi pada media VJA	80

INTISARI

PURWANINGRUM, R., 2018. UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) DAN DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA DILUSI. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Tanaman sirsak dan ungu merupakan tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional. Daun sirsak dan daun ungu mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak dibuat dengan 3 perbandingan (ekstrak etanol daun sirsak : ekstrak etanol daun ungu) yaitu 1:1; 1:3; 3:1. Hasil ekstraksi dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Kontrol positif yang di gunakan adalah suspensi bakteri dan kontrol negatif larutan stok ekstrak.

Hasil uji metode dilusi adalah kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu perbandingan 1:1 memiliki daya hambat paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu 25%. Konsentrasi Bunuh Minimum kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu bersifat antagonis karena memiliki KBM yang sangat berbeda dengan ekstrak tunggal.

Kata kunci : daun sirsak, daun ungu, ekstrak, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibakteri.

ABSTRACT

PURWANINGRUM, R., 2018. ACTIVITY TEST COMBINATION EXTRACT ETHANOL SOURSOP LEAVES (*Annona muricata L.*) AND PURPLE LEAVES (*Graptophylluempictym (L.) Griff*) TO GROWTH *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 IN DILUTION. SKRIPSI, SETIA BUDI UNIVERSITY OF PHARMACY, SURAKARTA.

Soursop and purple plant which are used as traditional medicine. Soursop leaves and purple leaves contain alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins which have antibacterial activity on the combination of ethanolic extract of soursop leaf and purple leaves on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The extraction was done by maceration method used 96% of ethanol solvent. The extract was made with 3 comparisons (ethanolic extract of soursop leaf : purple leaf ethanol extract) as 1:1, 1:3, 3:1. The result of extraction then was tested for antibacterial activity test by using dilution method with concentration of 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Positive control used bacterial suspension and negative control used stock of extract solution.

The result of the dilution method test was the combination of ethanolic extract of soursop and purple leaf ratio of 1:1 had the best inhibitory effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 on 25th the Kill Minimum concentration from combination of ethanolic extract of soursop leaf and purple leaf is antagonistic because it has a very different of KBM result with a single extract.

Keywords : Soursop leaf, purple leaf, extract, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibacterial.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kulit merupakan organ yang melapisi seluruh bagian tubuh, dan membungkus organ-organ yang berada dalam tubuh dari berbagai macam gangguan rangsangan dari luar, baik itu cuaca, polusi, temperatur dan sinar matahari (Syaifuddin 2006). Kulit sangat rentan terkena infeksi ataupun penyakit kulit lain yang salah satunya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Penyebab bakteri *Staphylococcus aureus* paling sering ditularkan dari tangan ke tangan (WHO 2013). Sebagai upaya pencegahan terhadap infeksi bakteri *S. aureus* adalah dengan mencari senyawa-senyawa alam yang berasal dari tanaman, diantaranya yaitu daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff).

S. aureus adalah sel sferis Gram positif yang ditemukan pada 40% orang sehat (Gillespie 2009) dengan rentangan insidensi pada kulit 5-15% (Shulmann *et al* 1994). Mikroorganisme ini merupakan penyebab paling umum infeksi kulit (Chiller *et al* 2001) serta infeksi sistemik bakteremia stafilokokus yang mengalami peningkatan insidensi pada 2 dekade terakhir dengan angka mortalitas sebanyak 15-60% (Chiller *et al* 2001; Cosgrove *et al* 2003).

Indonesia kaya akan berbagai jenis tumbuhan obat yang banyak digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat zaman dahulu sampai sekarang. Beberapa tanaman dapat dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral, dan sediaan galeniknya atau dari bahan-bahan tersebut (Dewoto 2007).

Hasil penelitian tentang daun sirsak menunjukkan zat-zat aktif alkaloid, tanin, dan beberapa kandungan kimia lainnya termasuk *annonaceous acetogenins*. *Acetogenins* merupakan senyawa yang memiliki potensi sitotoksik. Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang dapat bersifat toksik untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Mardiana 2011). Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa infusa daun sirsak memiliki aktivitas terhadap

pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 . Hasil penelitian tersebut didapatkan hasil nilai KBM sebesar 85% (Sari *et al* 2010).

Hasil penelitian dari tanaman daun ungu mempunyai berbagai kandungan kimia yang bersifat sebagai antibakteri, antiinflamasi, peluruh air seni, mempercepat pemasakan bisul, pelembut kulit kaki, melunakkan feses dan mengempiskan wasir (Ahmad 1990). Daun ungu diketahui mengandung flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid (Arifatin 1999). Penelitian yang dilakukan oleh Proboseno (2011) ekstrak etanol daun ungu memiliki potensi terhadap bakteri *S. aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun ungu adalah 9,1 mm, dan 7,60 mm.

Penggunaan kombinasi obat herbal ialah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi, penggunaan dua obat yang berbeda secara bersama-sama dapat memberikan interaksi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) sehingga efeknya lemah dan interaksi yang satunya dapat memperlihatkan kerja sama yang baik antara kedua obat (sinergisme) sehingga efeknya saling menguatkan. Efek antagonis dapat terjadi apabila obat yang pertama melemahkan efek obat yang kedua, sedangkan sinergisme terjadi apabila kedua obat dikombinasikan bersama dan efeknya lebih baik dari pada dosis tunggal dari masing-masing obat (Tjay & Rahardja 2007).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan masalah penelitian :

Pertama, apakah kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923?

Kedua, berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) kombinasi ekstrak etanol daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) pada perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923?

Ketiga, manakah dari perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)

Griff), yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling aktif untuk menghambat *S. aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas dapat diketahui beberapa tujuan penelitian yaitu:

Pertama, untuk mengetahui kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kedua, untuk mengetahui berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) pada perbandingan 1:1, 3:1, dan 3:1 sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Ketiga, untuk mengetahui manakah dari perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) yang memiliki aktivitas anti bakteri yang paling aktif untuk menghambat *S. aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi yang bermanfaat kepada masyarakat luas dalam bidang farmasi khususnya tentang aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dan sekaligus untuk membuka wawasan dan ilmu pengetahuan yang berkaitan dengan dalam mengatasi masalah kesehatan di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak

1. Sistematika tanaman sirsak (*Annona muricata* L.)

Klasifikasi tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) menurut Sunarjono 2005) adalah :

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Sub divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledonae*
Ordo : *Polycarpiceae*
Familia : *Annonaceae*
Genus : *Annona*
Spesies : *Annona muricata* L.



Gambar 1. Foto Tanaman Sirsak

2. Nama lain

Tanaman sirsak memiliki nama yang berbeda-beda di setiap daerah yaitu Deureujan (Aceh), tarutung belanda (Batak toba), durio olandra (Nias), durian betawi (Minangkabau), jambu landa (Lampung), durian belanda (Melayu), nangka walanda (Sunda), sirsak (Jawa tengah), nangka boris (Madura), srikaya jawa (Bali), diam blade (Kenya), naka (Flores), naka loanda (Boru), durian (Halmahera) (Anonim 2001).

3. Morfologi tanaman

Tanaman sirsak adalah berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. Terdapat banyak putik di dalam satu bunga sehingga diberi nama bunga berpistil majemuk. Sebagian bunga terdapat dalam lingkaran, dan sebagian lagi membentuk spiral atau terpenjar, tersusun secara hemisiklis. Mahkota bunga yang berjumlah 6 sepalum yang terdiri dari dua lingkaran, bentuknya hampir segitiga, tebal, dan kaku, berwarna kuning keputih-putiham, dan setelah tua mekar dan lepas dari dasar bunganya. Bunga umumnya keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon bentuknya sempurna (Sunarjono 2005).

4. Kandungan kimia

Tanaman sirsak mengandung alkaloid, tanin, dan beberapa kandungan kimia lainnya termasuk *Annonaceous acetogenins*. *Acetogenins* merupakan senyawa yang memiliki potensi sitotoksik. Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang dapat bersifat toksik untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Mardiana 2011). *Acetogenins* merupakan inhibitor kuat dari kompleks I mitokondria atau *NADH dehidrogenase*. Zat ini akan mengakibatkan penurunan produksi ATP yang akan menyebabkan kematian sel kanker, lalu kemudian memicu terjadinya aktivasi jalur apoptosis serta mengaktifkan p53 yang dapat menghentikan siklus sel untuk mencegah terjadinya proliferasi tak terkendali (Retnani 2011).

4.1. Alkaloid. Alkaloid merupakan suatu senyawa yang berasal dari tumbuhan, mengandung nitrogen, biasanya berbentuk heterosiklik dalam ikatan primer, sekunder, dan pada umumnya berasa pahit dan memiliki aksi farmakologi tertentu. Alkaloid berlaku sebagai pengatur zat tumbuh karena dari struktur, beberapa alkohol menyerupai pengatur tumbuh (Robinson 1995). Pada umumnya alkaloid larut dalam pelarut lipofil, dan garamnya larut dalam pelarut hidrofil. Alkaloid dalam tumbuhan umumnya terdapat sebagai garam organik (misalnya sebagai tartrat, sitrat) sehingga bisa diekstraksi dengan pelarut yang bersifat hidrofil misalnya campuran etanol dan air (Voigt 1995).

4.2. Flavonoid. Diperkirakan 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berikatan erat dengannya seperti tannin dan antosianin. Flavonoid adalah salah satu golongan fenol alam terbesar (Tyler 1988). Flavonoid juga merupakan senyawa polar maka umumnya senyawa flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air (Tyler 1988).

4.3. Saponin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan dalam konsentrasi yang rendah sering menimbulkan hemolisis sel darah merah. Dikenal dua jenis saponin, glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah melibatkan pembentukan kompleks dengan sterol pada membran plasma sehingga menghancurkan semi permeabilitas sel, kemudian mengarah pada kematian sel (Kumalasari dan Sulistyani 2011).

4.4. Polifenol. Senyawa polifenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan dengan ciri-ciri mempunyai cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Beberapa ribu senyawa fenol telah diketahui strukturnya. Flavonoid merupakan golongan terbesar, tetapi fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, dan kuinon fenolik juga terdapat dalam jumlah besar. Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan seperti lignin, melanin, dan tanin adalah senyawa polifenol (Harbone 1987).

5. Kegunaan tanaman

Daun sirsak dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk pengobatan kanker, yakni dengan mengkonsumsi air rebusan daun sirsak. Selain untuk pengobatan kanker, tanaman sirsak juga dimanfaatkan untuk pengobatan demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, anti mikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu, dan lain lain (Mardiana 2011).

B. Tanaman Daun Ungu

1. Sistematika tanaman ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Menurut Kemenkes RI (2011), sistematika *Graptophyllum pictum* (L.)

Griff adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Devisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: Graptophyllum
Species	: <i>Graptophyllum Pictum</i> Griff.



Gambar 2. Tanaman Daun Ungu

2. Nama lain

Tanaman ungu memiliki nama yang berbeda-beda di setiap daerah yaitu: *pudin* (Sumatera); *daun ungu* (Jawa tengah), *handeleum* (Sunda), *karaton* (Madura), *teman* (Bali), *kadi-kadi* (Ternate), *dongo-dongo* (Tidore) (Kemenkes RI 2011).

3. Morfologi tanaman

Tanaman ungu merupakan tanaman perdu dengan tinggi ± 2 m. Batang berkayu, beruas, permukaan licin, ungu kehijauan. Daun tunggal, berhadapan, bulat telur, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas mengkilat, panjang 15-25 cm, lebar 5-11 cm, ungu, ungu tua.

Bunga berbentuk majemuk, di ujung batang, pangkal kelopak berlekatan, bagian ujung berbagi lima, ungu, benang sari empat, melekat pada mahkota bunga, tangkai sari ungu, kepala sari ungu kehitaman, putik bentuk tabung, ujung bertajuk lima, ungu. Buah berbentuk kotak, lonjong, ungu kecoklatan. Biji berbentuk bulat berwarna putih, dan akar tunggang berwarna coklat muda (Kemenkes RI 2011).

4. Kandungan kimia

4.1 Flavonoid. Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida (Harborne 1987). Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki fungsi sebagai senyawa antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstra seluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Ruban 2012).

4.2 Alkaloid. Sebagian besar alkaloid mempunyai kerangka dasar polisiklik termasuk cincin heterosiklik nitrogen serta mengandung substituen yang tidak terlalu bervariasi. Atom nitrogen alkaloida hampir selalu berada dalam bentuk gugus amin ($-NR_2$) atau gugus amida ($-CO-NR_2$) dan tidak pernah dalam bentuk gugus nitro (NO_2) atau gugus diazo. Sedang substituen oksigen biasanya ditemukan sebagai gugus fenol ($-OH$), metoksil ($-OCH_3$) atau gugus metilendioksi ($-O-CH_2-O$). Substituen-substituen oksigen ini dan gugus N-metil merupakan ciri sebagian besar alkaloid (Lenny 2006).

Alkaloid merupakan golongan zat metabolit sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel (Robinson 1995).

4.3 Saponin. Saponin merupakan senyawa yang tersebar luas dalam tanaman, bersifat mirip sabun dan mudah membentuk busa. Saponin memiliki struktur mirip steroid sehingga penggunaan yang berlebihan dapat menyebabkan gejala-gejala serupa akibat penggunaan steroid yang berlebih, seperti hipertensi dan trombosis (Heinrich *et al* 2005).

Saponin mempunyai efek membranolitik yaitu membentuk kompleks dengan kolesterol di membran sel bakteri. Saponin mempunyai efek antibakteri dan antijamur yang bagus. Efek antijamur dan antibakteri terganggu dengan adanya gugus monosakarida dan turunannya. Saponin dapat berfungsi sebagai detergen. Detergen memiliki struktur yang dapat berikatan dengan molekul hidrofilik dan molekul-molekul organik non polar (lipofilik) sehingga mampu merusak membran sitoplasma dan membunuh mikroba (Cheeke 2000).

4.4 Tanin. Tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan karboksil. Senyawa tanin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis (Harbone 1987).

Tanin memiliki aktivitas antimikroba dengan menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Sel mikroba menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel mikroba akan mati (Cowan 1999).

4.5 Steroid. Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung sklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Dahulu sering digunakan sebagai hormon kelamin, asam empedu, dll. Tetapi pada tahun-tahun terakhir ini makin banyak senyawa steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan (Harborne 1987; Robinson 1995). Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membrane lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri 2013).

5. Kegunaan daun ungu

Secara tradisional daun, kulit batang, dan bunga dari tanaman ungu dapat digunakan untuk memperlancar haid, mengobati wasir, sembelit, borok, bisul, bengkak terpukul, dan sakit telinga (Wijayakusuma *et al* 1996; Hariana 2009). Di Ambon-Maluku dan Jayapura Papua, ramuan daun ungu (bahasa Maluku : alifuru) tidak hanya digunakan untuk menyembuhkan bisul tetapi juga digunakan untuk

pengobatan penyakit ginjal, diabetes, rematik, dan darah tinggi (Khumaida *et al* 2008). Dengan berbagai kandungan kimiawinya daun ungu mempunyai sifat sebagai antibakteri, antiinflamasi, peluruh air seni, mempercepat pemasakan bisul, pencahar ringan, pelembut kulit kaki, melunakkan feces dan mengempiskan wasir (Ahmad 1990).

6.Efek Kombinasi obat

Pengertian kombinasi obat menurut Tan dan Raharja tahun 2002 yaitu suatu campuran dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiat masing-masing obat dapat saling mempengaruhi yakni dapat melibatkan efek antagonis (kerja berlawanan) atau efek sinergisme (kerja sama). Efek dari kombinasi obat ada 2 yaitu : Efek antagonis adalah terjadi apabila efek yang dihasilkan dari kombinasi obat lemah atau obat yang pertama akan melemahkan obat yang kedua. Efek sinergisme merupakan kerja sama antara dua obat yang dibagi menjadi dua jenis yaitu Adisi (penambahan) dan Potensial (peningkatan potensi).

C. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Pengeringan secara alamiah dapat juga dilakukan dengan panas matahari langsung. Cara ini dilakukan untuk mengeringkan bagian tanaman yang relatif keras seperti kayu, biji dan simplisia dengan kandungan senyawa aktif yang relative stabil apabila terkena panas.

D. Metode Penyarian

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan sediaan kering, kental, atau cair, dibuat dengan mengambil sari simplisia nabati atau hewani dengan cara yang sesuai, diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Cairan penyari yang digunakan antara lain air, eter, atau campuran etanol air. Penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbu-tumbuhan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi untuk memperoleh ekstrak yang sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih suatu metode ekstraksi (Tiwari *et al* 2011).

2. Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Proses maserasi dimulai dengan merendam simplisia yang sudah dihaluskan menjadi serbuk dalam larutan penyari sampai meresap dan susunan sel akan melunak sehingga zat-zat yang mudah larut akan terlarut (Ansel 1989).

Larutan zat aktif pada serbuk simplisia terjadi karena cairan penyari menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif kemudian terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel yang menyebabkan zat aktif terlarut. Penyarian yang kurang sempurna dan lama merupakan kekurangan dari metode maserasi. Pada umumnya maserasi dilakukan dengan cara merendam seluruh bagiana simplisia dengan derajat halus yang sesuai kedaalam suatu bejana. Simplisia ditambahkan dengan 75 bagian cairan penyari. Maserasi harus terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk, dan dibiarkan selama 5 hari, dan setelaah 5 hari disaring dengan kain flannel. Cairan penyari secukupnya ditambahkan pada ampas, diaduk dan di saring sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Keuntungan dari metode maserasi adalah teknik pengerjaan sederhana, alat yang digunakan

sederhana, dan dapat mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil (Depkes RI 1986).

3. Pelarut

Pemilihan cairan penyari yang digunakan untuk ekstraksi harus berdasarkan daya larut zat aktif (Ansel 1989). Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi, tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel dan memperbaiki struktur bahan obat tertentu (Harbone 1987). Disamping itu etanol juga digunakan untuk melarutkan minyak menguap (Ansel 1987).

Senyawa yang dapat larut dengan etanol antara lain alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakhinon, flavonoid, steroid, klorofil, lemak, malam, tanin, dan saponin. Etanol dapat dipertimbangkan sebagai pelarut karena lebih efektif, kapang dan kuman tidak mudah tumbuh, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan tidak diperlukan panas yang tinggi untuk pemekatan (Anonim 1986).

Pemilihan etanol 96% sebagai cairan penyari karena sifatnya yang lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsi baik, dapat mencegah pertumbuhan kapang dan kuman bercampur dengan air dengan segala perbandingan, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, sedangkan kerugiannya adalah harganya yang mahal. Etanol 96% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana pengotor yang ikut ke dalam cairan sangat kecil (Voigt 1995).

E. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk pemisahan senyawa secara cepat dengan menggunakan zat penjerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca (Depkes RI 1979). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan senyawa dari campuran senyawa lain, agar menjadi senyawa murninya. Kelebihan KLT adalah keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaan. Keserbagunaan KLT dikarenakan bahwa selain selulosa, sejumlah penyerap lain dapat disaputkan pada pelat kaca atau penyangga lain. Meskipun silika gel yang paling banyak digunakan, kecepatan KLT

dipengaruhi oleh sifat penyerap yang lebih padat bila disaputkan pada pelat. Kekurangan KLT adalah kerja penyaputan pelat kaca dengan penyerap, bubuk silika gel yang harus dikocok kuat-kuat tiap jangka waktu tertentu, pengeringan pada suhu kamar dan pengaktifan dengan pemanasan pada suhu 100°C - 110°C selama 30 menit (Harbone 1987).

Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang melibatkan dua fase yaitu sifat fase diam atau sifat lapisan dan sifat fase gerak atau campuran pelarut pengembang. Komponen kimia dapat bergerak naik mengikuti fase gerak karena adanya daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia yang berbeda sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hasil inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan (Stahl 1985). Fase diam dapat berupa serbuk halus berfungsi sebagai permukaan penyerap dan sebagai penyangga untuk lapisan zat cair. Cara deteksi bercak dapat dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dengan pereaksi semprot khusus untuk senyawa tertentu (Sudjadi 1986).

F. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1. Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus*

Sistematika bakteri *S. aureus* ATCC 25923 menurut Garrity *et al.* (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Class : Bacili
 Ordo : Bacillales
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : Staphylococcus
 Species : *Staphylococcus aureus*

2. Morfologi dan Fisiologi

S. aureus ATCC 25923 merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul (Boyd 1980), berbentuk kokus dan

tersusun seperti buah anggur (Todar 2002). Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus*. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetil glukosamin (Boyd 1980).

3. Identifikasi *Staphylococcus aureus*

S. aureus ATCC 25923 adalah bakteri berbentuk bulat mempunyai diameter kira-kira 0,7-1,2 μm , dan biasanya hidup bergerombol seperti buah anggur. *S. aureus* tidak bergerak karena tidak memiliki flagella dan tidak membentuk spora. *S. aureus* ATCC 25923 mudah tumbuh dalam keadaan aerobik maupun mikro-aerobik pada suhu optimum 37°C. Koloni pada medium padat berbentuk bulat, halus, menonjol dan berkilauan, *S. aureus* ATCC 25923 membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawetz *et al.* 2005).

S. aureus ATCC 25923 adalah bakteri Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. *S. aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al.* 2005).

S. aureus ATCC 25923 dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *S. aureus* relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisillin karena membentuk panisilinase (beta-laktamase), suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol

genetik resistensi terhadap antibiotika lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin (Jawetz *et al* 2005).

S. aureus ATCC 25923 bersifat koagulase positif, yang membedakannya dari spesies yang lain. Protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat. *S. aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat. *S. aureus* tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al* 2012).

Pengobatan *S. aureus* ATCC 25923 untuk kasus ringan di luar rumah sakit dapat diberikan Penisilin G. Infeksi yang berat atau jika diduga tahan (resisten) terhadap Penisilin, dapat diberikan Metisilin atau derivat Penisilin lain yang resisten penisilinase (Warsa 1993).

Pengobatan bakteri Gram positif *S. aureus* ATCC 25923 meliputi penyakit abses, bakterimia, endokartitis, pneumonia, osteomyelitis, selulitis dapat diterapi dengan berbagai macam prioritas pemilihan obat yang sesuai melalui uji sensitivitas masing-masing antibiotik tersebut. Pasien yang terkena abses peka terhadap penisilin pemberian pilihan meliputi terapi pertama menggunakan nafsilin atau oksasilin, alternatif terapi kedua menggunakan sefalosporin generasi pertama, kedua, ketiga secara beraturan, dan terapi ketiga menggunakan klindamisin. Pasien bakterimia menggunakan terapi alternatif kedua dengan menggunakan vankomisin dan alternatif ketiga menggunakan makrolida. Pasien endokarditis dan pneumonia menggunakan terapi alternatif trimetoprim-sulfametoksazole ditambah rifampisin. Pasien selulitis resisten metisilin pemberian pilihan terapinya meliputi terapi pertama menggunakan vankomisin, alternatif terapi kedua menggunakan kuinupristin-dalfopristin dan terapi ketiga menggunakan linezolid (Goodman & Gilman 2007). Pengobatan terapi

profilaksis operasi dengan kemungkinan terinfeksi *S. aureus* dapat diberikan sefazolin, klindamisin pada saat induksi anestesia (Bennett 2006).

G. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri adalah suatu senyawa yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al* 2007). Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yaitu germisid, bakterisida, bakterostatika, antiseptik, desinfektan (Dianasari 2009).

Germisid adalah bahan yang dipakai untuk membasmi mikroorganisme dengan mematikan sel-sel vegetatif, tetapi tidak selalu mematikan bentuk sporanya. Bakterisida adalah bahan yang dipakai untuk mematikan bentuk-bentuk vegetatif bakteri. Bakterostatik adalah suatu bahan yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa memamatkannya. Antiseptik adalah suatu bahan yang menghambat atau membunuh mikroorganisme dengan mencegah pertumbuhan atau menghambat aktivitas metabolisme, digunakan pada jaringan hidup. Desinfektan adalah bahan yang dipakai untuk membasmi bakteri dan mikroorganisme patogen tapi belum tentu beserta sporanya, digunakan pada benda mati (Pelezar & Chan 1988).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Jawetz *et al* 1986).

Pertama, mengganggu metabolisme mikroba, mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari *Para Amino Benzoic Acid* (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimiroba bila bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi dan bisa menyebabkan bakteri mati (Ganiswara 1995). Contoh

antibakteri yang bekerja menghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamida dan trimetoprin (Bakung 2014).

Kedua, menghambat sintesis dinding sel bakteri, dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Ganiswara 1995). Contoh antibakteri golongan antara lain penisilin, sefalosporin, fosfomisin, vankomisin, sikloserin, dan basitrasin (Radji 2002).

Ketiga, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Ganiswara 1995). Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu membran sel sehingga mempengaruhi kehidupan sel bakteri, antara lain polimiksin, nistatin, golongan makrolida dan poliena (misal amfoterisin B) (Radji 2002).

Keempat, menghambat sintesis protein sel bakteri, bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu mekanisme kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel bakteri (Ganiswara 1995). Antibakteri yang termasuk golongan ini antara lain aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin (Radji 2002).

Kelima, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri. Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja ini pada umumnya bersifat toksik kurang selektif, karena antibakteri ini bersifat sitotoksik terhadap sel tubuh hospes, sehingga hanya bersifat sitotoksik yang masih dapat diterima sebagai

antibakteri (Ganiswara 1995). Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini antara lain asam nalidiksat dan golongan kuinolon (Radji 2002).

3. Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode dilusi.

Metode dilusi berguna untuk mencari KHM dan KBM dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba (Bonang & Koeswardono 1982). Keuntungan metode dilusi adalah bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata sehingga metode ini lebih peka. Kekurangan metode ini adalah memerlukan waktu relatif lebih lama, tidak praktis (Jawetz *et al* 1986).

Prinsip metode dilusi adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair, lalu diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM, selanjutnya KHM tersebut dikultur ulang pada media agar tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media agar yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi 2008).

H. Media

1. Definisi media

Media adalah tempat jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mengandung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, didalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan

osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain (Abdurahman 2008).

2. Macam-macam media

Bentuk media ada tiga jenis yaitu media padat, media setengah padat, media cair.

2.1. Media padat. Media padat diperoleh dengan cara menambahkan agar-agar. Agar berasal dari ganggang atau alga yang berfungsi sebagai bahan pematat. Alga digunakan karena bahan ini tidak diuraikan oleh mikroorganisme, dan dapat membeku pada suhu 45°C. Media padat terbagi menjadi media Agar miring dan Agar deep (Waluyo 2004).

2.2. Media setengah padat. Media setengah padat adalah media yang dibuat dengan bahan sama dengan media padat, akan tetapi yang berbeda adalah komposisi agarnya. Media ini digunakan untuk melihat gerak kuman secara mikroskopik (Waluyo 2004).

2.3. Media cair. Media cair juga dikenal sebagai media sintetik. Media sintetik merupakan media yang mempunyai kandungan dan isi bahan telah diketahui secara terperinci. Media sintetik sering digunakan untuk mempelajari genetika mikroorganisme. Senyawa anorganik dan senyawa organik yang ditambahkan dalam media sintetik harus murni. Contoh media sintetik adalah cairan Hanks, Locke, Eigel (Waluyo 2004).

I. Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang memiliki khasiat untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteristatik sedangkan antibakteri yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri disebut bakterisid (Gabiswara 1995).

Berdasarkan mekanisme kerja, antibakteri dibagi menjadi 5 kelompok yaitu :

1. Menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan, yaitu suatu kompleks polimer glikopeptida. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis.

2. Menghambat metabolisme sel bakteri

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimikroba bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional.

3. Meningkatkan permeabilitas membrane sel bakteri

Kerja antibakteri salah satunya adalah mengubah tegangan permukaan sehingga merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain.

4. Menghambat sintesis protein sel bakteri

Untuk kelangsungan hidupnya bakteri perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan non fungsional bagi sel mikroba.

5. Menghambat sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Karena mekanisme berikatan dengan enzim polymerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim (Ganiswara 1995).

Kombinasi obat adalah perpaduan dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) atau kerja sama (sinergisme) (Tan dan Raharja 2002). Efek dari kombinasi obat ada 2 yaitu :

6. Antagonisme

Antagonis adalah terjadi apabila kegiatan obat pertama dikurangi dan ditiadakan sama sekali oleh obat kedua yang memiliki khasiat farmakologi yang berlawanan.

7. Sinergisme

Sinergisme adalah kerjasama antara dua obat dan dikenal dua jenis yaitu : Adisi (penambahan). Adisi yaitu efek kombinasi sama dengan jumlah kegiatan masing-masing obat dan potensiasi (peningkatan potensi).

J. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan didalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Waluyo 2004).

Sterilisasi merupakan suatu proses untuk membunuh semua jasad renik yang ada, sehingga jika ditumbuhkan didalam suatu medium tidak ada lagi jasad renik yang paling tahan panas seperti bakteri. Sterilisasi dengan autoklaf biasanya disebut sterilisasi basah atau sterilisator uap yang mudah diangkat dengan menggunakan uap air jenuh bertekanan pada suhu 121°C disebabkan oleh tekanan 1 atm. Metode selain dengan menggunakan sterilisasi basah juga dapat menggunakan metode lainnya seperti perebusan, tyndalisasi, pasteurisasi, pemanasan kering, radiasi, radiasi ionisasi, penyaringan, dan lain-lain (Fardiaz 2001).

Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi 2008).

K. Landasan Teori

Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung alkaloid, tanin, dan beberapa kandungan kimia lainnya termasuk *Annonaceous acetogenins*. *Acetogenins* merupakan inhibitor kuat dari kompleks I mitokondria atau *NADH dehidrogenase*. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa infusa daun sirsak memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923. Hasil penelitian tersebut didapatkan hasil nilai KBM sebesar 85% (Sari *et al* 2010).

Daun ungu mempunyai berbagai kandungan kimia yang bersifat sebagai antibakteri, antiinflamasi, peluruh air seni, mempercepat pemasakan bisul, pencakar ringan, pelembut kulit kaki, melunakkan feaces, dan mengempiskan wasir (Ahmad 1990). Daun ungu diketahui mengandung flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid (Arifatin 1999). Penelitian yang dilakukan oleh Proboseno (2011) ekstrak etanol daun ungu memiliki potensi terhadap *S. aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun ungu kadar 0,25 mg/ml, dan 0,001875 mg/ml berturut-turut adalah 9,1 mm, dan 7,60 mm.

Daun ungu merupakan tanaman yang satu familia dengan daun jeruju yaitu *Acanthaceae*. Secara kemotaksonomi suatu tanaman dengan familia yang sama kemungkinan mempunyai sifat kandungan kimia dan sifat antibakteri yang hampir sama. Daun ungu dan daun jeruju mengandung flavonoid jenis flavon (Soediro *et al* 2003; Defonda *et al* 2010). Senyawa flavonoid jenis flavon merupakan suatu senyawa kimia yang dapat larut dengan baik pada pelarut semi polar seperti etil asetat. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Gina *et al* 2013) fraksi etil asetat daun jeruju menunjukkan daya hambat terbaik terhadap *Vibrio harveyi* yaitu 12 mm pada konsentrasi 700 ppm.

S. aureus ATCC 25923 merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul (Boyd 1980), berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur (Todar 2002) sebagaimana. Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen

dari *Staphylococcus*. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetil glukosamin (Boyd 1980).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Pelarut etanol 96% yang digunakan maserasi, karena netral, tidak beracun, dan lebih sulit ditumbuhi bakteri dalam etanol lebih dari 20%. Kelebihan menggunakan etanol karena mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim.

Penggunaan kombinasi obat herbal ialah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi. Kombinasi yang saling menguatkan disebut sinergisme. Efek sinergisme efeknya lebih baik dari dosis tunggal masing-masing obat (Tjay & Rahardja 2007).

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas *Staphylococcus aureus* adalah metode dilusi. Metode dilusi berguna untuk mencari KHM dan KBM dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba (Bonang & Koeswardono 1982). Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM, selanjutnya KHM tersebut dikultur pada media agar tanpa penambahan mikroba uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media agar yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi 2008). Sebagai kontrol positif dalam penelitian ini dapat digunakan kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun ungu.

L. Hipotesis

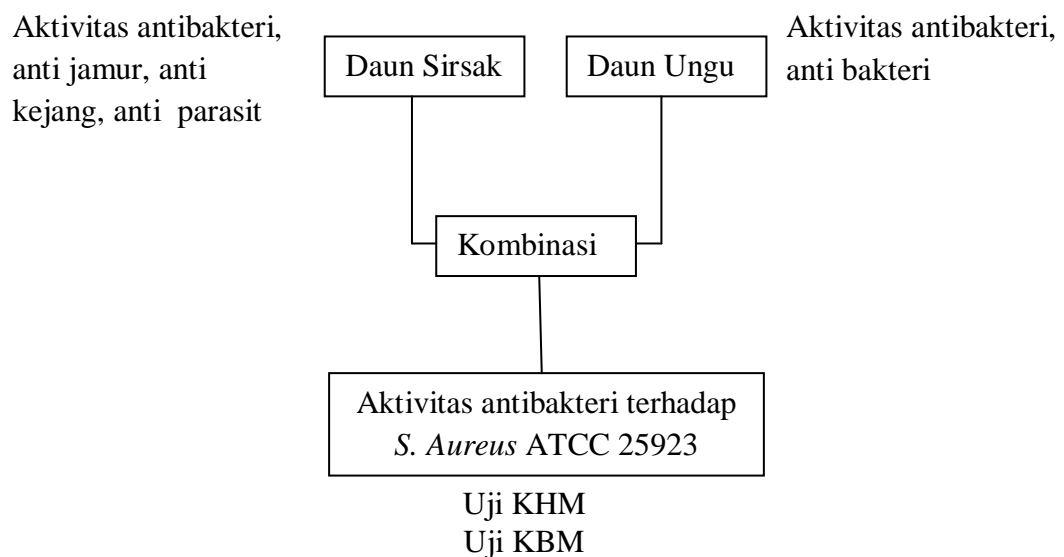
Berdasarkan pada permasalahan yang ada dapat disusun hipotesis dalam penelitian yaitu :

Pertama, kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dengan perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Ketiga, senyawa yang terkandung dalam kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. Aureus* ATCC 25923 yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, tanin..

M. Kerangka Pikir



Gambar 3. Kerangka pikir

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff yang diperoleh yang diperoleh pada bulan agustus 2017 dari daerah Ngawi, Jawa Timur.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff yang di ambil secara acak dengan memilih daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, berwarna ungu muda sampai dengan ungu tua, segar dan bebas dari hama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff). Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 terhadap *S. aureus* ATCC 25923. Variabel utama ketiga aktivitas kombinasi ekstrak etanol terhadap *S. aureus*.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang diidentifikasi dapat diklasifikasikan menjadi berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel kendali dan variabel tergantung. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan-perubahan. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun ungu , ekstrak diperoleh dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu ditetapkan kualitasnya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah alat dan bahan yang digunakan, suhu, waktu inkubasi dan media, kemurniaan bakteri *S. aureus*.

Variabel terikat adalah titik pusat dari persoalan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri kombinasi dari ekstrak etanol daun sirih dan daun ungu yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *S. aureus* pada media uji.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sirih (*Annona muricata* L) adalah daun sirih yang berwarna hijau yang bebas dari penyakit yang diambil dari Ngawi, Jawa Timur.

Kedua, daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) adalah daun ungu segar berwarna ungu kehijauan yang bebas dari penyakit yang diambil dari Ngawi, Jawa Timur.

Ketiga, serbuk daun sirih adalah daun sirih yang berwarna hijau dan segar yang terbebas dari penyakit yang telah diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir hingga tidak ada kotoran dan debu yang menempel setelah itu dikeringkan dalam alat oven pada suhu 50°C setelah sampel kering dihaluskan sehingga menjadi serbuk diayak dengan ayakan nomor 40.

Keempat, serbuk daun ungu adalah daun ungu yang berwarna ungu kehijauan dan segar yang terbebas dari penyakit yang telah diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir hingga tidak ada kotoran dan debu yang menempel setelah itu dikeringkan dalam alat oven pada suhu 50°C setelah sampel kering dihaluskan sehingga menjadi serbuk diayak dengan ayakan nomor 40.

Kelima, ekstrak tunggal daun sirih adalah hasil maserasi 500 gram serbuk daun sirih dan pelarut etanol 96%.

Keenam, ekstrak tunggal daun ungu adalah hasil maserasi 500 gram serbuk daun sirih dan pelarut etanol 96%.

Ketujuh, kombinasi ekstrak daun sirih dan daun ungu 1:1 adalah hasil dari maserasi serbuk daun sirih sebanyak 250 gram : serbuk daun ungu 250 gram dengan pelarut etanol 96% .

Kedelapan, kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun ungu 1:3 adalah hasil dari maserasi serbuk daun sirsak sebanyak 125 gram : serbuk daun ungu 375 gram dengan pelarut etanol 96% .

Kesembilan, kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun ungu 3:1 adalah hasil dari maserasi serbuk daun sirsak sebanyak 375 gram : serbuk daun ungu 125 gram dengan pelarut etanol 96% .

Kesepuluh, bakteri uji dari penelitian ini adalah *S. aureus* ATCC 25923 yang diambil dari Laboratorium Universitas Setiabudi Surakarta.

Kesebelas, penentuan aktivitas antibakteri dari ekstrak dengan metode dilusi yang pengujian dengan membuat konsentrasi ekstrak tunggal etanol daun sirsak, ekstrak tunggal etanol daun ungu dan kombinasi ekstrak etanol (1:1); (1:3); (3:1) yang diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati dengan melihat taraf kekeruhan.

Keduapuluh, uji aktivitas antibakteri adalah uji dengan menggunakan metode dilusi. Metode dilusi merupakan satu metode menggunakan antimikroba dengan kadar menurun. Konsentrasi dimulai kadar 50%; 25%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%.

Ketigabelas, KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ditentukan dengan mengamati konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan kejernihan. Penentuan nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) merupakan konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri dengan mengamati pertumbuhan bakteri pada medium yang kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C yang ditandai dengan ada tidak pertumbuhan bakteri.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan alat timbang, mesin giling, perangkat alat gelas (labu Erlenmeyer, botol coklat), kain flanel, cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi, labu takar, inkas, jarum Ose, pinset, pipet ukur, batang pengaduk, cawan porselin, penangas air, lampu spirtus, kaki tiga, oven, seperangkat alat Vacuum dan KLT

Vallu, *Rotary Evaporator*, autoklaf, incubator, labu destilasi, corong kaca, kertas cakram.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut daun Sirsak (*Annona muricata L.*), daun Ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff) etanol 96%, media, *Brain Heart Infussion* (BHI), media *Vogel Johnson Agar* (VJA), tween 2,5%, larutan KOH 1 N, larutan FeCl₃, larutan amonia, aquadestilata, HCl encer, HCl 1%, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi daun. Determinasi daun sirsak dan daun ungu ini dimaksudkan untuk menetapkan sampel yang digunakan untuk penelitian. Determinasi harus dicocokkan pula dengan pustaka yang dibuktikan di Laboratorium Biologi MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Pembuatan serbuk

Pembuatan serbuk dilakukan dengan cara yaitu pertama daun sirsak dan daun ungu dicuci dengan air mengalir yang bersih supaya terbebas dari kotoran dan debu. Daun sirsak dan daun ungu yang telah dicuci bersih kemudian masing-masing dipotong menjadi bagian yang lebih kecil kemudian ditimbang. Tahap berikutnya kedua macam daun yaitu daun sirsak dan daun ungu di oven secara bersamaan selama kurang lebih 5 hari. Daun sirsak dan daun ungu yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 14 sehingga mendapatkan serbuk yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen.

3. Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan daun sirsak dan daun ungu dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Pengeringan secara manual yaitu selama 15 menit pada temperatur 95°C kemudian ditimbang pada neraca timbangan masing-masing serbuk daun sirsak dan daun ungu sebanyak 2 gram. Kemudian ditunggu

sampai alat *Moisture Balance* berbunyi dimana menandakan hasil analisa telah selesai. Kadar lembab akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

4. Pembuatan ekstrak etanol 96%

4.1 Ekstrak etanol daun sirsak. Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan 500 gram serbuk daun sirsak yang kemudian dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian dicampurkan diamkan selama 5 hari dan sesekali digojok. Setelah 5 hari ekstrak yang didapat disaring, kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C.

4.2 Ekstrak etanol daun ungu. Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan 500 gram serbuk daun ungu yang kemudian dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian dicampurkan diamkan selama 5 hari dan sesekali digojok. Setelah 5 hari ekstrak yang didapat disaring, kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C.

4.3 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu 1:1. Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1:1 yaitu 250 gram serbuk daun sirsak dan 250 gram serbuk daun ungu yang kemudian dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian dicampurkan diamkan selama 5 hari dan sekali digojok. Setelah 5 hari ekstrak yang didapat disaring, kemudian dipekatkan dengan *Rotary evaporator* dengan suhu 56°C.

4.4 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu 1:3. Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1:3 yaitu 125 gram serbuk daun sirsak dan 375 gram serbuk daun ungu yang kemudian dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan

penyari, kemudiaan dicampurkan diamkan selama lima hari dan sekali digojok. Setelah lima hari ekstrak yang didapat disaring, kemudiaan dipekatkan dengan *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C.

4.5 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu 3:1.

Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1:3 yaitu 375 gram serbuk daun sirsak dan 125 gram serbuk daun ungu yang kemudian dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudiaan dicampurkan diamkan selama lima hari dan sekali digojok. Setelah lima hari ekstrak yang didapat disaring, kemudiaan dipekatkan dengan *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C.

5. Uji bebas etanol daun sirsak dan daun ungu

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol. Ekstrak kombinasi daun sirsak dan daun ungu ditambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau etil salisilat berarti ekstrak tidak mengandung etanol.

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirsak dan daun ungu

Ekstrak teraktif dari ekstrak etanol kombinasi daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun Ungu *Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian totolkan menggunakan pipa kapiler pada jarak 1 cm dari sisi bawah lempeng KLT. Lapsi bak kromatografi dengan kertas saring. Jenuhkan bak kromatografi dengan fase gerak yang sesuai, ditandai dengan kertas saring terbasahi semuanya. Setelah totolan kering, masukkan lempeng KLT pada bak kromatografi yang sudah dijenuhkan, elusi dilakukan sampai jarak tertentu. Angkat lempeng KLT angin-anginkan hingga kering, kemudian deteksi noda di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta pereaksi tertentu. Bercak yang terdeteksi kemudian ditentukan harga Rfnya dan penampakan warnanya.

6.1 Flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menggunakan KLT. Pada fase diam selulosa dan dielusi dengan fase gerak BAA yaitu butanol : asam asetat : air (4:1:5). Dengan pereaksi semprot uap amoniak dan citroborat.

Bercak yang terjadi diamati di bawah UV 254 nm memberikan peredaman, UV 366 nm menunjukkan warna bercak kuning (Marliana 2007).

6.2 Tannin. Identifikasi tanin dilakukan dengan menggunakan KLT dengan menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya menggunakan *n*-heksan : etil asetat (3:7). Di deteksi dibawah sinar UV 366 nm berwarna hitam (Saputri 2014).

6.3 Alkaloid. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menggunakan KLT dengan Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak yang digunakan etil asetat : etanol : air (90:9:1) dengan pereaksi semprot Dragendrof. Digunakan toluen sebagai pembanding. Senyawa alkaloid akan terlihat bercak jingga sampai merah tua setelah disemprot dengan pereaksi Dragendrof. Alkaloid akan menunjukkan peredaman pada sinar UV 254 nm dan beberapa alkaloid akan berfluorensi kuning atau biru (Harborne 2006).

6.4 Saponin. Identifikasi saponin dilakukan dengan menggunakan KLT. Fase gerak yang digunakan kloroform: metanol: air (64:50:10). Setelah lempeng kromatografi berada 30 menit dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan, suhu 20⁰C harus tetap terjaga. Suhu yang lebih tinggi, maka semua bercak akan berpindah ke daerah R_f yang lebih atas. Pereaksi penampak yang digunakan anisaldehyd-asam sulfat pekat. Pereaksi ini saponin membentuk bercak hijau sampai biru bila diamati pada sinar tampak (Harborne 1987).

7. Sterilisasi alat dan media

Media agar yang digunakan disterilisasikan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit, karena uap panasnya efektif untuk sterilisasi medium. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilisasikan dengan menggunakan oven pada suhu 170⁰-180⁰C selama 2 jam. Alat-alat seperti jarum Ose disterilisasikan dengan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Suriawiria 2005).

8. Pembuatan suspensi bakteri

S. aureus ATCC 25923 diambil dari biakan murni kurang lebih 2 Ose, kemudian digoreskan pada media VJA yang kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C. Hasil inkubasi digunakan sebagai stok bakteri uji. Kurang

lebih 2 ose biakan *S. aureus* dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media cair BHI, dicampur sehingga homogen dan didapat kekeruhan yang sama dengan standart Mc.Farland 0,5 yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8$ juta per ml. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *S. aureus* dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakterisaat pengujian.

9. Identifikasi bakteri

9.1 Identifikasi morfologi. Suspensi bakteri *S. aureus* ATCC 25923 yang sudah siap, digoreskan pada media *Vogel Johnson Agar* dan penambahan kalium tellurit 1%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif bila penampakan koloni berwarna hitam dan warna medium disekitar koloni kuning (Jawetz *et al* 2007).

9.2 Identifikasi mikroskopis pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram *S. aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol:aseton = 1:1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara dibuat preparat ulas (smear) yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, didiamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram B, didiamkan kurang lebih 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan peluntur Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 45 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan didiamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian dikeringkan preparat. Bakteri *S. aureus* dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.

9.3 Uji katalase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrien cair ditambah dengan 2 tetes hidrogen peroksida 3%. Penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2O dan O_2 hasil dinyatakan positif bila terlihat gelembung udara di sekitar koloni, hal ini disebabkan karena *S. aureus* mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al* 2007).

9.4 Uji koagulase. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menyiapkan plasma kelinci dan asam sitrat yang telah diencerkan 1:5 ditambah 1 Ose biakan bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-4 jam. Hasilnya positif jika tabung uji dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al* 2007).

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

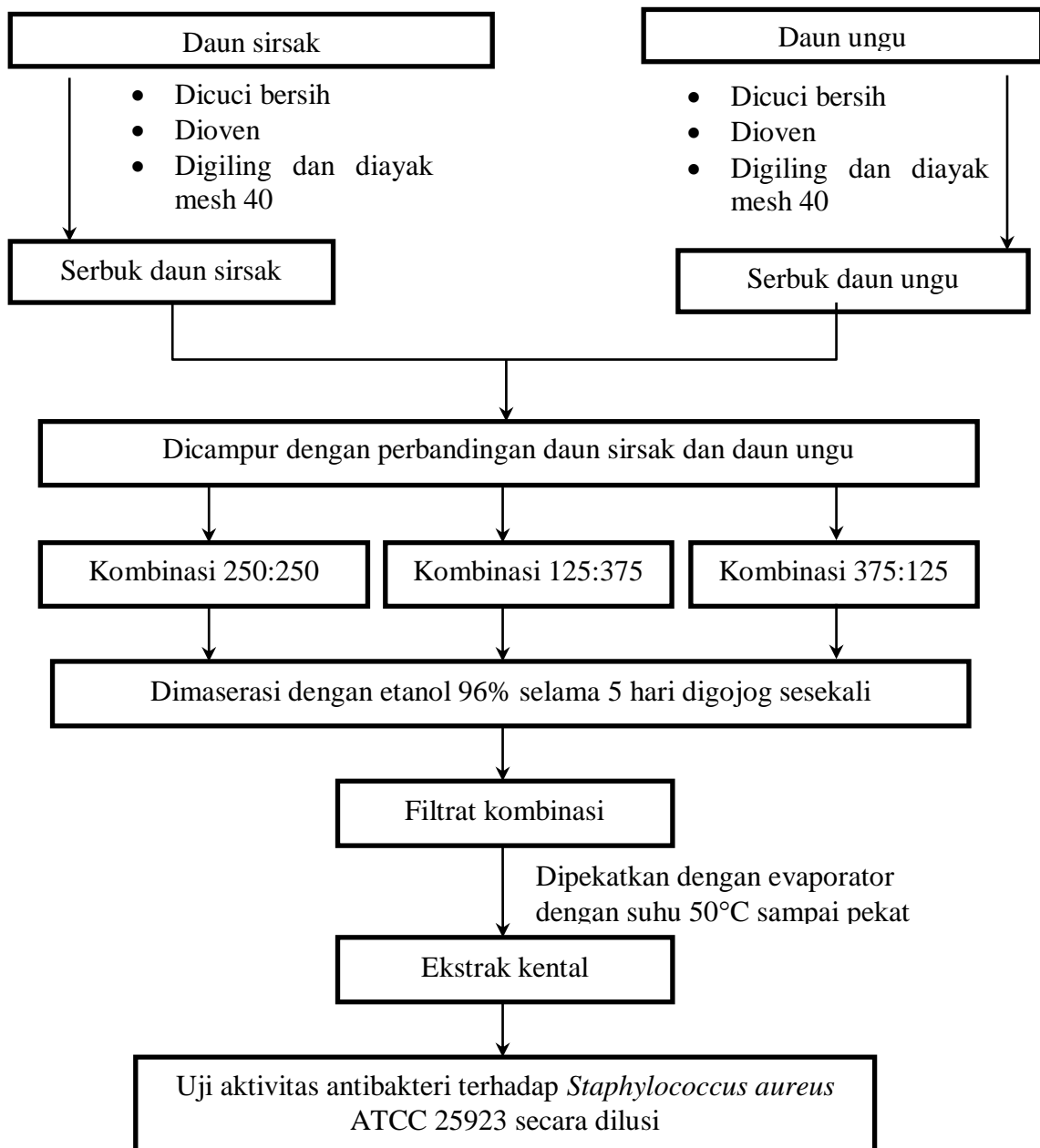
Diambil dari biakan murni kurang lebih 2 Ose, kemudian digoreskan pada media VJA yang kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi digunakan sebagai stok bakteri uji. Beberapa ose biakan *S. aureus* dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media cair BHI, dicampur sehingga homogen dan didapatkan kekeruhan yang sama dengan standart Mc.Farland 0,5 yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8$ juta per ml.

11. Uji antibakteri secara dilusi

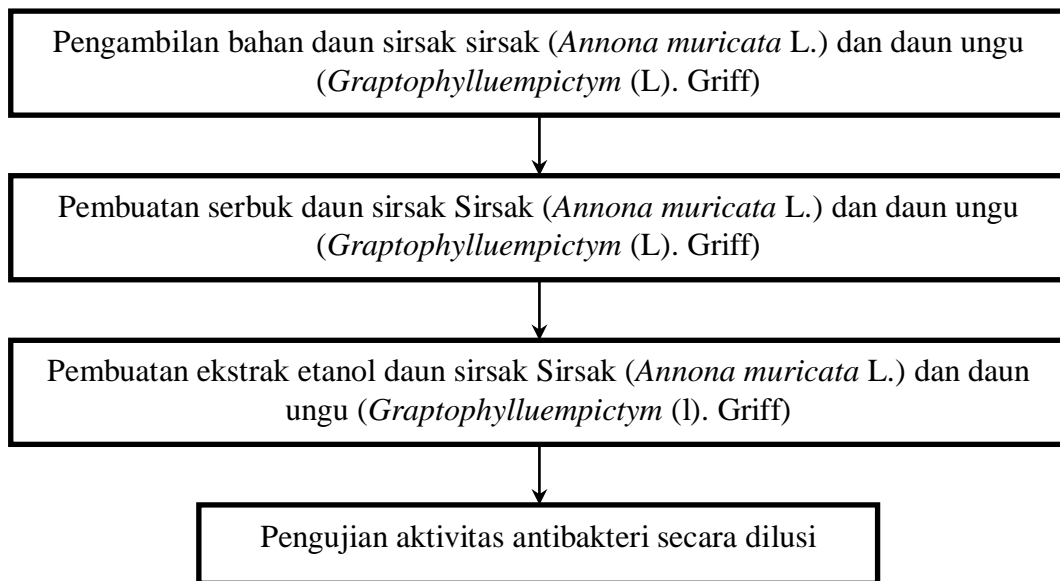
Uji aktivitas antibakteri metode dilusi. Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,19%, 0,09%. Metode dilusi adalah dengan cara pengenceran 12 tabung steril yang dibuat secara aseptis. Metode ini dilakukan dengan memasukkan bahan uji kedalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung nomor 12 sebagai kontrol positif yang berisi suspensi bakteri dan kontrol negatif berisi larutan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu, masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi bahan uji yang berbeda dengan menambahkan bahan pengencer atau media BHI. Suspensi bakteri yang setara dengan standard Mc Farland 0,5 dengan pengenceran 1:1000 dimasukkan kedalam masing-masing tabung uji kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, lalu diamati kekeruhannya (Anonim 1986). Semua tabung uji dilakukan pengujian kembali untuk membuktikan apakah bakteri tersebut memang tidak dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut dengan menggunakan media *Vogel Johnson agar* (VJA) untuk melihat pertumbuhan bakterinya dan untuk menentukan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari kombinasi ekstrak etanol tersebut.

E. Analisis Hasil

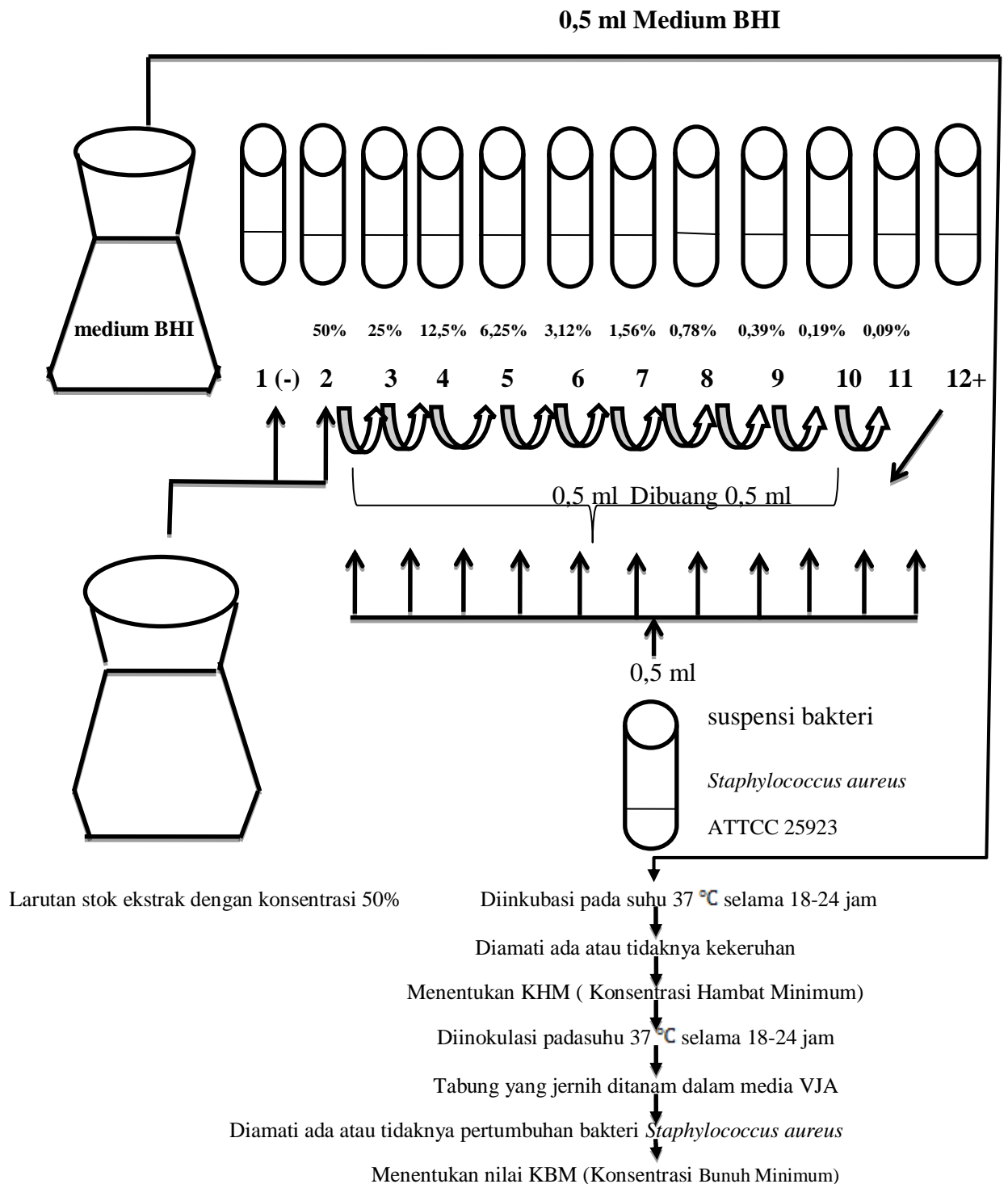
Analisis hasil yang digunakan secara dilusi adalah dengan membandingkan hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu (500:500; 125:375; 375:125) dari hasil tiga kali replikasi pengujian terhadap *S. aureus* ATCC 25923.



Gambar 4. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu dengan metode maserasi.



Gambar 5. Skema jalannya penelitian



Gambar 6. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan serbuk daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas dari tanaman yang digunakan sehingga dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan benar-benar tanaman yang diinginkan. Determinasi dilakukan di Laboratorium Bagian Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta, dan memberikan hasil yaitu tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). Hasil determinasi tanaman sirsak dan tanaman ungu adalah sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404a-406b-409a-410b-411a_____ **187. Acanthaceae**

1a-2b-7b-32b-33a_____ **43. Graptophyllum**

1_____ **Graptophyllum pictum (L.) Griff.**

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107b-186b-287b-288b-289b-298b-302b-308b-309b-310b-311a-312a-313b
_____ **10. Annonaceae**

1b-10b-13b-17a_____ **27. Annona**

1a-2a_____ **Annona muricata L.**

Surat keterangan determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan Simplisia

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun sirsak dan daun ungu yang diperoleh dari daerah Ngawi, Jawa Timur

Daun sirsak dan daun ungu masing-masing dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel dan ditiriskan. Daun sirsak dan daun ungu dipotong-potong kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 40-50°C selama 5 hari untuk menghilangkan kandungan air dalam daun segar. Simplisia daun sirsak dan daun ungu dimasukkan ke dalam mesin penyerbukan menjadi serbuk halus, dengan tujuan untuk meningkatkan luas permukaan sampel sehingga pelarut lebih mudah masuk ke dalam sel dan menarik zat aktif yang larut untuk keluar dari sel. Hasil rendemen bobot kering daun sirsak dan daun ungu dapat dilihat pada tabel 1 dan perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 2.

Tabel 1. Perhitungan rendemen bobot susut pengeringan daun sirsak dan daun ungu

Bahan	Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (%)
Daun sirsak	5000	1800	36 %
Daun ungu	6000	2500	42%

Serbuk tersebut kemudian diayak dengan ayakan mesh 40. Menurut buku Farmakope Herbal Indonesia (2008) menyebutkan bahwa derajat kehalusan serbuk dinyatakan dengan satu nomor, dimaksudkan bahwa semua serbuk dapat melalui pengayak dengan nomor tersebut. Pemilihan ayakan mesh 40 dalam penelitian ini dimaksudkan untuk meminimalisir penyumbatan pada alat perkolator karena yang lolos ayakan mesh 40 memiliki ukuran partikel yang kecil, selain itu apabila serbuk terlalu halus maka cairan penyari tidak dapat turun hal ini disebabkan karena ruang antar sel yang merupakan jalan yang mudah dilalui oleh cairan penyari berkurang. Menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2011) menyatakan bahwa susut pengeringan daun sirsak dan daun ungu tidak boleh lebih dari 10%, sehingga hasil susut pengeringan daun ungu pada penelitian sudah sesuai dengan literatur yaitu 5,8%, dan hasil susut pengeringan daun sirsak pada penelitian yaitu 6,1 %, maka susut pengeringan daun ungu sudah memenuhi persyaratan yaitu 10%.

2.1. Perhitungan susut pengeringan. Penetapan susut pengeringan merupakan suatu proses yang dilakukan untuk mengetahui banyaknya bagian zat yang dapat menguap dan dilakukan dengan cara pengeringan. Pengujian ini menggunakan alat *Moisture Balance*. Prinsip kerja dari alat ini yaitu pemanasan secara konstan pada sampel berupa simplisia atau ekstrak pada suhu 105°C selama beberapa waktu sehingga semua senyawa yang dapat menguap pada suhu 105°C akan teruapkan termasuk air dan minyak atsiri. Tujuan penetapan susut pengeringan untuk mengetahui batasan maksimal besarnya kandungan air di dalam bahan. Simplisia dinilai cukup aman bila nilai penetapan susut pengeringan sesuai dengan literatur untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur bakteri, dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk. Hasil susut pengeringan serbuk daun sirsak dan serbuk daun ungu dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan serbuk ungu

Replikasi	Penimbangan (gram)		Susut pengeringan (%)	
	A	B	A	B
1	2,0	2,0	6,3	6,5
2	2,0	2,0	5,8	6,0
3	2,0	2,0	5,3	6,0
Rata-rata			5,8	6,1

Keterangan :

A : serbuk daun sirsak

B : serbuk daun ungu

Hasil penetapan susut pengeringan dilakukan tiga kali replikasi menggunakan *moisture balance*. Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak yaitu 5,8% hal ini sudah sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia Suplemen 1 yaitu tidak lebih dari 10%. Serbuk daun ungu memiliki rata-rata penyusutan yaitu 6,1% sudah sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia Suplemen 1 yaitu tidak boleh lebih dari 10%.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak dan Daun Ungu

Ekstraksi terhadap serbuk daun sirsak dan daun ungu dilakukan menggunakan ekstraksi cara dingin, yaitu dengan maserasi. Metode ini pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali sehingga maserasi

merupakan teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas ataupun tahan panas.

Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% pemilihan pelarut tersebut dikarenakan etanol dengan kadar 96% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1995).

Ekstrak yang telah dimaserasi, dipekatkan dengan vacum rotary evaporator. Prinsip vacum rotary evaporator yaitu pada penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu dibawah titik didih dan terpisah dari sumbernya dengan pemanasan secara vakum. Vacum rotary evaporator mampu menguapkan pelarut dibawah titik didih sehingga zat yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak oleh suhu yang tinggi. Maserat kemudian dikeringkan hingga terbentuk ekstrak kental. Hasil ekstrak kental dihitung sebagai rendemen ekstrak. Berikut tabel hasil rendemen ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu.

Tabel 3. Rendemen ekstrak daun sirsak dan daun ungu

Bahan	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak kental (gram)	Rendemen (%) b/v
Daun sirsak	1000	145,831	14,5
Daun ungu	1000	172,056	17,2

Berdasarkan tabel 3 di atas dapat dilihat bahwa perhitungan presentase rendemen hasil maserasi serbuk daun sirsak 500 gram yang dilarutkan dengan pelarut etanol 96% didapatkan ekstrak kental seberat 145,831 gram sehingga diperoleh rendemen 29,1 % dan hasil maserasi serbuk daun ungu 500 gram yang dilarutkan dengan pelarut etanol 96% didapatkan ekstrak kental seberat 172,056 gram sehingga diperoleh rendemen 34,4% . Ekstrak kental dipekatkan menggunakan evaporator sampai bobot konstan, kemudian dioven dengan suhu 50°C.

4. Uji bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membuktikan bahwa tidak ada kandungan etanol yang terdapat dalam ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu. Dengan demikian hasil pada aktivitas antibakteri murni karena pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu bukan karena

senyawa pelarut etanol pada ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu. Hasil uji menunjukkan hasil tidak adanya bau ester yang khas Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji bebas etanol

Bahan yang diujikan	Pereaksi	Hasil pengujian
Ekstrak daun sirsak	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat+ CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas
Ekstrak daun ungu	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat+ CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas

5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu secara Kromatografi Lapis Tipis KLT

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan pada ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu. Profil kromatografi dari masing – masing senyawa dapat dilihat pada lampiran 12. Hasil identifikasi kandungan senyawa dengan metode KLT dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji bebas etanol

Senyawa	Fase gerak	Pereaksi semprot	Perbandingan	Rf	Hasil
Flavonoid	Butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)	Sitroborat	Kuersetin	1. 0,72	+
				2. 0,90	
				3. 0,72	
Alkaloid	Etil asetat : etanol : air (90 : 9 : 1)	Dragendrof	Alkaloid	1. 0,78	+
				2. 0,81	
				3. 0,81	
Saponin	Kloroform : metanol : air (64 : 50 : 10)	Anisaldehi d- asam	Saponin	1. 0,78	+
				2. 0,9	
				3. 0,8	
Tanin	<i>n</i> -heksan : etil asetat (3 : 7)	FeCl ₃	Asam galat	1. 0,7	+
				2. 0,9	
				3. 0,9	

Keterangan :

Rf pembanding (1. Larutan baku)

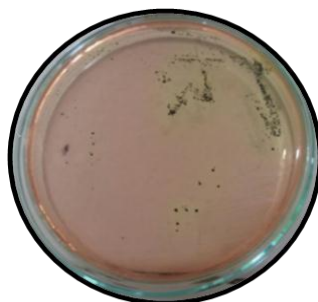
Rf sampel (2. Daun sirsak, 3. Daun ungu)

Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Hasil ini ditunjukkan dengan munculnya bercak yang sama antara ekstrak dan pembanding sehingga harga Rf keduanya sama. Pada UV 254 nm lempeng silika gel akan berfluoresensi sedangkan pada bercak mengalami peredaman, hal tersebut dikarenakan adanya gugus kromofor pada lempeng silika gel sehingga dapat

berfluoresensi pada UV 254 nm. Sedangkan dilihat pada sinar UV 366 nm bercak akan berfluoresensi dan silika gel mengalami peredaman.

6. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

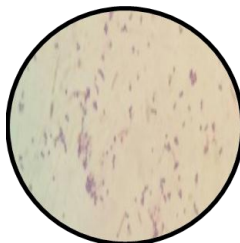
6.1. Identifikasi morfologi *S. aureus*. Identifikasi morfologi *S.aureus* dengan menggunakan media *Vogel Johnson Agar*. Identifikasi dilakukan dengan cara menggoreskan inokulasi suspensi bakteri *S.aureus* ATCC 25923 pada media *Vogel Johnson Agar* yang telah ditetesi dengan kalium telurit 1% sebanyak 2-3 tetes. Media yang telah berisi dengan bakteri kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Hasil setelah diinkubasi selama 18 jam adalah timbul koloni berwarna hitam dengan media disekitarnya berubah menjadi warna kuning muda. Warna hitam pada koloni karena bakteri mereduksi kalium telurit, sedangkan warna kuning pada media disebabkan adanya fermentasi manitol sehingga dalam kondisi asam media menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua. Hasil dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 7. Hasil dengan menggunakan media selektif *Vogel Johnson Agar*

6.1.1 Pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram berguna untuk membedakan Gram positif dan Gram negatif. Pengamatan pada penelitian pewarnaan bakteri *S.aureus* menunjukkan bahwa bentuk isolat adalah bergerombol seperti buah anggur. Pada gambar 5 menunjukkan adanya koloni yang bergerombol berwarna ungu. Bakteri Gram positif mampu mempertahankan zat warna utama dalam pewarnaan Gram yaitu, *Gentian violet*, sehingga tampak berwarna ungu, saat pengamatan dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan mampu mengikat warna ungu dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol. Hal tersebut disebabkan bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal. Peptidoglikan akan terdehidrasi oleh alkohol, menyebabkan pori dinding tertutup dan mencegah

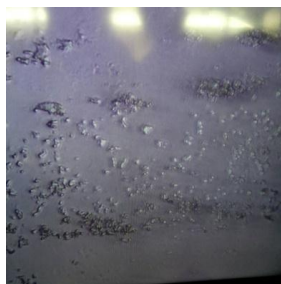
kompleks iodin-kristal violet tidak keluar dari sel sehingga warna ungu tidak luntur dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol (Madigan 2011)



Gambar 8. Pewarnaan bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*

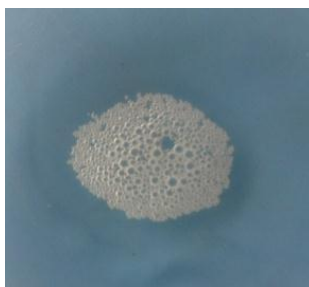
6.2.1 Uji biokimia. Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya dengan uji katalase dan uji koagulase. Proses biokimia erat kaitannya dengan metabolisme sel yakni selama reaksi kimia yang dilakukan oleh sel yang menghasilkan energi maupun yang menggunakan energi untuk sintesis komponen-komponen sel dan untuk kegiatan seluler, seperti pergerakan (Petczar *et al* 2010). Uji biokimia untuk *S. aureus* adalah uji katalase dan uji koagulase.

6.1.3 Uji koagulase. Menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat yang telah diencerkan 1:5 ditambahkan 1 ose biakan bakteri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. *S. aureus* menghasilkan koagulase yaitu suatu protein yang mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang telah diberi oksalat atau sitrat dalam serum. Serum yang bereaksi dengan koagulase untuk menghasilkan enterase dan menyebabkan aktivitas pembekuan. Koagulase dapat mengendapkan fibrin pada permukaan *S. aureus* sehingga terbentuklah gumpalan apabila *S. aureus* dinyatakan positif. Hasil penggumpalan tidak terlihat dengan jelas, maka dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x terlihat hasil pada Gambar . 6.



Gambar 9. Hasil koagulase

6.1.4 Uji katalase. Dilakukan dengan mengambil satu ose inokulum *S. aureus* kemudian diletakkan pada kaca arloji yang telah disterilkan, kemudian ditetesi dengan H_2O_2 hingga terjadi gelembung udara. Hasil positif ditandai adanya gelembung udara karena H_2O_2 bersifat toksik bagi bakteri, sehingga *S. aureus* akan menghasilkan enzim katalase untuk menetralkan H_2O_2 menjadi H_2 dan O_2 maka terbentuk gelembung. Hasil dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 10. Hasil katalase

7. Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Penetapan KBM dilakukan dengan melihat dari kejernihan dari tabung yang berisi zat uji. Namun, pengujian pada penelitian ini menggunakan ekstrak yang umumnya berwarna gelap dan keruh walaupun sudah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan, sehingga hasil Konsentrasi Hambat Minimum tidak dapat ditetapkan dan data yang ditetapkan adalah data Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) saja. Konsentrasi Bunuh Minimum adalah kemampuan sampel bahan uji yang digunakan untuk membunuh bakteri dengan konsentrasi terkecil. Semakin kecil konsentrasi yang dihasilkan maka semakin besar kemampuan dalam membunuh bakteri. Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan menginokulasikan cairan dari tabung pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditambahi dengan 2-3 tetes kalium telurit 1% diinkubasi dengan suhu $37^{\circ}C$ selama 18-24 jam. Hasil dilihat dan apabila tidak terdapat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi tertentu maka nilai KBM dapat ditentukan. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya dapat dilihat pada tabel 5, 6, 7, 8, dan 9.

Tabel 5. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri tunggal ekstrak etanol daun sirsak terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi

No	Konsentrasi (% ^B / _V)	Ekstrak Etanol Daun Sirsak		
		Replikasi		
		1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	-	-	-
4	12,5	-	-	-
5	6,25	+	+	+
6	3,12	+	+	+
7	1,56	+	+	+
8	0,78	+	+	+
9	0,39	+	+	+
10	0,19	+	+	+
11	0,09	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

- (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri
 (+) : Ada pertumbuhan bakteri
 Kontrol (-) : laruta stok (ekstrak tunggal)
 Kontrol (+) : Suspensi bakteri + BHI
 Tabung 2-10 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Tabel 6. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri tunggal ekstrak etanol daun ungu terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi

No	Konsentrasi (% ^B / _V)	Ekstrak Etanol Daun Ungu		
		Replikasi		
		1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	-	-	-
4	12,5	-	-	-
5	6,25	+	+	+
6	3,12	+	+	+
7	1,56	+	+	+
8	0,78	+	+	+
9	0,39	+	+	+
10	0,19	+	+	+
11	0,09	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

- (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri
 (+) : Ada pertumbuhan bakteri
 Kontrol (-) : laruta stok (ekstrak tunggal)
 Kontrol (+) : Suspensi bakteri + BHI
 Tabung 2-10 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Tabel 7. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi 1:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi

No	Konsentrasi (% ^B /v)	Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak Dan Daun Ungu Perbandingan 1:1		
		Replikasi		
		1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	-	-	-
4	12,5	+	+	+
5	6,25	+	+	+
6	3,12	+	+	+
7	1,56	+	+	+
8	0,78	+	+	+
9	0,39	+	+	+
10	0,19	+	+	+
11	0,09	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : laruta stok (ekstrak kombinasi)

Kontrol (+) : Suspensi bakteri + BHI

Tabung 2-10 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Tabel 8. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi 1:3 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi

No	Konsentrasi (% ^B /v)	Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak Dan Daun Ungu Perbandingan 1:3		
		Replikasi		
		1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	+	+	+
4	12,5	+	+	+
5	6,25	+	+	+
6	3,12	+	+	+
7	1,56	+	+	+
8	0,78	+	+	+
9	0,39	+	+	+
10	0,19	+	+	+
11	0,09	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : laruta stok (ekstrak kombinasi)

Kontrol (+) : Suspensi bakteri + BHI

Tabung 2-10 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Tabel 9. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi 3:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi

No	Konsentrasi (% ^B / _V)	Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak Dan Daun Ungu Perbandingan 3:1		
		Replikasi		
		1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	+	+	+
4	12,5	+	+	+
5	6,25	+	+	+
6	3,12	+	+	+
7	1,56	+	+	+
8	0,78	+	+	+
9	0,39	+	+	+
10	0,19	+	+	+
11	0,09	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

- (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri
- (+) : Ada pertumbuhan bakteri
- Kontrol (-) : laruta stok (ekstrak kombinasi)
- Kontrol (+) : Suspensi bakteri + BHI
- Tabung 2-10 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Pertumbuhan bakteri *S. aureus* ditandai dengan koloni berbentuk kokus berwarna hitam dengan pinggiran berwarna kuning. Warna tersebut muncul karena bakteri *S. aureus* mampu meragikan maintol pada media VJA.

Pengujian terhadap tunggal ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu menggunakan seri konsentrasi mulai dari 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, dan 0,09% dengan melakukan replikasi 3 kali. Pada replikasi pertama, hasil pengujian pada konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% mampu membunuh pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 sedangkan pada konsentrasi 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,391%, 0,19%, dan 0,09% terdapat pertumbuhan bakteri. Hal yang sama juga ditunjukkan pada replikasi kedua, dan replikasi ketiga maka dapat ditetapkan bahwa nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu adalah 12,5%. Konsentrasi Bunuh Minimum yang dihasilkan karena adanya senyawa aktif yang terdapat di dalam kombinasi ekstrak etanol daun sirsak yaitu saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid. Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu pada perbandingan 1:1 menggunakan seri konsentrasi mulai dari 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%,

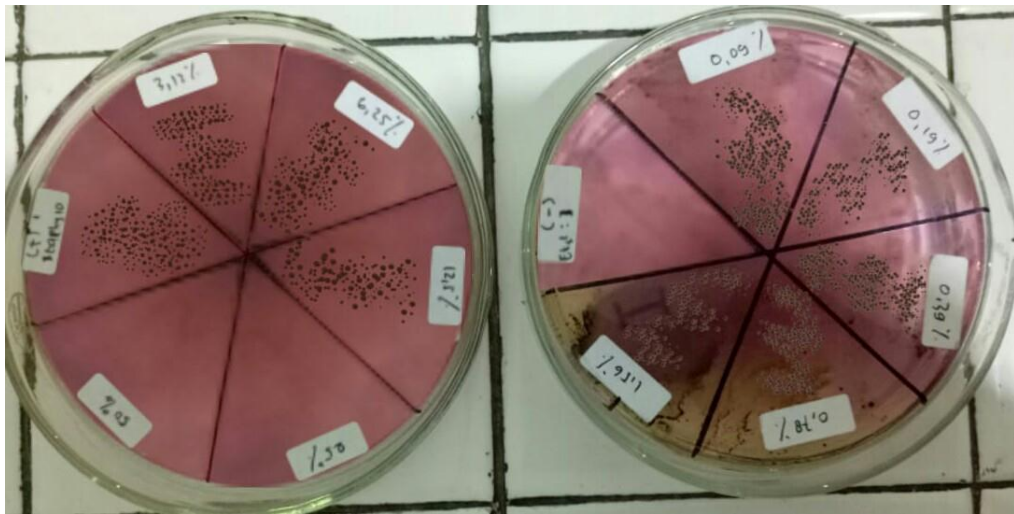
1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19, dan 0,09% dengan melakukan replikasi 3 kali. Pada replikasi pertama, hasil pengujian pada konsentrasi 50% dan 25% mampu membunuh pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 sedangkan pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, dan 0,09% terdapat pertumbuhan bakteri. Sedangkan Hal yang sama juga ditunjukkan pada replikasi kedua, dan ketiga maka dapat ditetapkan bahwa nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari kombinasi 1:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu adalah 25%. Konsentrasi Bunuh Minimum yang dihasilkan karena adanya senyawa aktif yang terdapat di dalam kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu yaitu saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid. Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu pada perbandingan 1:3 menggunakan seri konsentrasi mulai dari 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19, dan 0,09% dengan melakukan replikasi 3 kali. Pada replikasi pertama, hasil pengujian pada konsentrasi 50% mampu membunuh pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 sedangkan pada konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, dan 0,09% terdapat pertumbuhan bakteri. Sedangkan Hal yang sama juga ditunjukkan pada replikasi kedua, dan ketiga maka dapat ditetapkan bahwa nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari kombinasi 1:3 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu adalah 25%. Konsentrasi Bunuh Minimum yang dihasilkan karena adanya senyawa aktif yang terdapat di dalam kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu yaitu saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid. Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu pada perbandingan 3:1 menggunakan seri konsentrasi mulai dari 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19, dan 0,09% dengan melakukan replikasi 3 kali. Pada replikasi pertama, hasil pengujian pada konsentrasi 50% mampu membunuh pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 sedangkan pada konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56 %, 0,78%, 0,39%, 0,19%, dan 0,09% terdapat pertumbuhan bakteri. Sedangkan Hal yang sama juga ditunjukkan pada replikasi kedua, dan ketiga maka dapat ditetapkan bahwa nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari kombinasi 1:3

ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu adalah 25%. Konsentrasi Bunuh Minimum yang dihasilkan karena adanya senyawa aktif yang terdapat di dalam kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu yaitu saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid.

Dilihat dari hasil KBM kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu 1:1 ; 1:3 ; dan 3:1 didapatkan hasil kombinasi 1:1 sebesar 25%, kombinasi 1:3 dan 3:1 sebesar 50%. Kombinasi yang memiliki aktivitas KBM yang baik adalah kombinasi 1:1. Hal ini terjadi karena kombinasi 1:1 memiliki konsentrasi terkecil dibanding kombinasi 1:3 dan kombinasi 3:1. Pada umumnya kombinasi 1:1 memiliki aktivitas lebih rendah dari kombinasi 1:3 dan 3:1, tetapi hasil yang didapat 1:1 memiliki aktivitas lebih baik dari kombinasi 1:3 dan 3:1. Hal ini terjadi karena daun sirsak dan daun ungu bersifat antagonis sehingga jika salah satu ekstrak lebih dominan maka ekstrak yang lain akan menghambat aktivitasnya. Hasil dapat dilihat pada gambar 11 dan gambar 12.



Gambar 11. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi



Gambar 12. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi pada media VJA

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun ungu terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 25923 adalah :

Pertama, kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun ungu perbandingan 1:1 memiliki daya hambat yang paling baik terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi bunuh minimum 25% bersifat antagonis karena memiliki KBM yang sangat berbeda dengan ekstrak tunggal.

Kedua, kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun ungu pada perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi bunuh minimum 25%, 50%, dan 50%.

Ketiga, ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun ungu memiliki senyawa aktif yaitu flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun ungu terhadap bakteri patogen lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahman D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian dan Kesehatan*. Bandung:Grafindo Media Pratama.
- Ahmad SA. 1990. *Flavonoid dan Phytomedica, Kegunaan, dan Prospek*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Alam Hytomedika.
- [Anonim].1986.Sediaan Galenik. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Diterjemahkan oleh Farida Ibrahim. Edisi ke-4. Jakarta: UI-Press.Hlm 60-65.
- Arifatin LR. 1999. Kajian flavonoid daun *Graptophyllum pictum Griff* (daun wungu) sebagai analgesik dan antiinflamasi pada tikus (*Rattus Strain Wistar*) [Skripsi]. Malang: Jurusan Biologi FMIPA Unibraw.
- Bakung CT. 2014. Studi Penggunaan Antibiotik pada pasien ISPA Rawat Jalan di Rumah Sakit Profesor dr Aloe Saboe Kota Gorontalo [Thesis]. Universitas Negri Gorontalo
- Bennett JE. 2006. Antimicrobial Agents: Antifungal Agents. *Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th Edition. New York: McGraw-Hill.
- Bonang G. dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi kedokteran untuk Laboraturium dan Klinik*. Jakarta: PT. Gramedia. hlm 77-78,113-118.
- Boyd R.F, and J.J. Marr, 1980, *Medical Microbiologi*, Little, Brown and Company Inc, New York
- Cheeke PR. 2000. Actual and potential applications of *Yucca Schidigera* and *Quillaja Saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Proceedings of the American Society of Animal Science, American Society of Animal Science* 1-10.
- Chiller, K., Selkin, B.A., Murakawa, GJ., 2001. Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. *JIDSP*. 6: 170-174.
- Cosgrove, S.E., Sakoulas, G.,Perencevich, E.N., Schwaber, M.J., Karchemer, A.W., et al., 2003. Comparison of Mortality Associated With Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-Analysis. *CID*. 36 : 53-59.

- Cowan. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*, Clinical Microbiology Reviews. Department of Microbiology, Miami University, Oxford, Ohio 45056.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. Hlm 80-81
- [Depkes RI]. 1978. *Farmakope Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes RI]. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta :Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 2000. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 1. Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- [Depkes]. 2015. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Desfonda L, Djamil R. 2010. Isolasi dan identifikasi jenis senyawa flavonoid dalam fase *n*-butanol dari ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilcifolius* Linn.) Makasar: KongresIlmiah XVIII IAI.
- Dewoto, Hedi. R. 2007. Majalah Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57 : 205.
- Dianasari N. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesal piniasappan* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysentriae*
- Djide, M. N., 2003, *Mikrobiologi Farmasi*, 90, 96-97, Makassar, Jurusan Farmasi UNHAS.
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Fardiaz, Srikandi. 2001. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor. hlm 190.
- Ganiswara S, Setiabudy R, Suyatna F. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: UI Press. Hlm. 571-573.

- Garrity GM, Liburn JR, Cole SH, Harrison J, Euzeby and BJ tindall. 2007. *Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364.464.
- Gillespie, S., Bamford, K., 2009. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi Edisi Ketiga*. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Gunawan D. & Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 1-7, 9-13, 86-94, 104-122
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasih P, Iwang S. Penerjemah; Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia Penuntunan dan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi III. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB.
- Hariana A. 2009. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 1*. Penebar Swadaya. hlm 158.
- Heinrich M, Joanne B, Simon G, Elizabeth MW. 2005. *Farmakoterapi dan Fitoterapi*. Syarief ER, Cucu A, Ella E, Euis RF, penerjemah; Hadinata AH, editor. Penerbit Buku Kedokteran: EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, and Adelberg EA. 2007. *Medical Mikrobiology 2th Ed*. The McGraw Hill Companies, USA.
- Jawetz E, Melnick JL, and Adelberg EA. 2012. *Microbiology Kedokteran 25th Ed*. Editor edisi bahasa Adisti Adityaputri *et al*. Jakarta: ECG
- Jawetz E, Melnick JL, Edelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Review of Medical Mikrobiology*. 14th Edition. Bonang G, penerjemah: Jakarta: UI. Hlm 25-263.
- Jawetz, E., Melnick., J.L., Adelberg, E.A., 2005, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, Diterjemahkan Oleh Bonang G., Edisi XXIV, ECG., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- [Kementerian Kesehatan RI]. 2011. *100 Top Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia – Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional. hlm 96-97.
- Khumaida N, NN Kristina, D Sartiami, TL Mardiningsih. 2008. *Kearifan lokal penduduk Jawa Barat, Maluku dan Papua dalam memanfaatkan tanaman obat handeuleum (Graptophyllum pictum(L.) Griff)*. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia (TOI) XXXV. Serpong, 13-14 November 2008. Hlm 284-290.

- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavanoida, Fenilpropanida dan Alkaloida* [Karya Tulis I Imiah]. Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Madduluri, Suresh R, Babu K, 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 Sciences*. 5(4):679-684.
- Madigan, M. T., J. M. Martinto, D. A. Stahl, D. P. Clark. 2011. Brock biology of microorganism, 13th ed.
- Mardiana RN. 2011. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap *Bacillus cereus* dan *pseudomonas aeruginosa* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.
- Marliana E. 2007. Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Bent yang berfungsi sebagai antioksidan [jurnal]. Samarinda: Universitas Mulawarman.
- Pelczar M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Penerjemah Ratna Sirihadioetomo, dkk. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pramono, S., 2008, *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional*, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga. hlm 136, 190.
- Proboseno S. 2011. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* [Abstrak]. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Radji M. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Radji M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Retnani, V. 2011. Pengaruh Suplementasi Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Kejadian Displasia Epitel Kelenjar Payudara Tikus Sprague Dawley Yang Diinduksi 7, 12 Dimetilbenz Antracene. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.

- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Kosasih Padmawinata, penerjemah; Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plants*.
- Ruban P, Gajalakshmi K. 2012. In vitro antibacterial activity of hibiscus *Rosa-Sinensis* L. flower extract against human pathogens. *Asian Pac J Trop Biomed* 2 (5):399-403.
- Sari YD *et al.* 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Secara *in vitro* terhadap *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia Coli* ATCC 35218 serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. Kesmas. UAD. ISSN.1978-0575, Yogyakarta.
- Shulman, S.T., Phair, J.P., Sommers, H.M., 1994. *Dasar Biologi dan Klinis Penyakit Infeksi Edisi Keempat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, Penerbit ITB, Bandung.
- Sulistiyani, N. 2011. Aktivitas ekstrak etanol daun sirsak, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 1(2) :51-62.
- Sunarjono, Hendro. 2005. Sirsak dan Srikaya. Bogor : Swadaya.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*, Papas Sinar Sinanti. Jakarta.
- Suzuki, R, Iwasaki, S, Ito, Y, Hasegawa, T, Yamamoto, T, et al. 2003. Adult *staphylococcus scalded skin syndrome* in peritoneal dialysis patient. *JSN*. 7: 77-80.
- Syaifuddin, H. 2006., *Anatomi Fisiologi Untuk Mahasiswa Keperawatan*. Edisi ke-3, Jakarta: EGC.
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. *Skrining Fitokimia dan Ekstraksi. Internationale Pharmaceutica Scientia* 7:98-106.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G & Kaur H. 2011. Phytochemical.
- Tjay TH, Rahardja K. 2007. *Obat-obat Penting. Edisi kelima*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo. hlm 145-148
- Todar's K., Medison P., Wisconsin. 2004. Online Textbook of Bacteriology, Science Megazine. Vol.304, (Online), (http://www.text_book_of_bacteriology.net/) [28 September 2016]
- Tyler, V. E., et al, 1988, Pharmacognosy, Lea & Febiger, Philadelphia, 103-104.

- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Noerono S. Edisi V. UGM Press Yogyakarta. hlm 187-192.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: *Pharmaceutical Technology*.
- Waluyo, Lud. 2004. *Mikrobiologi Umum*. UMM press Malang.
- Warsa UC. 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara. hlm 103-124
- WHO, 2013. Initiative for Vaccine Research (IVR), Staphylococcal infection, (http://www.who.int/vaccine_research/disease/soa_bacteria/en/index2.html diakses tanggal 23 Mei 2013)
- Wijayakusuma HM, S Dalimartha, dan A.S. Wirian. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid 4. Pustaka Kartini. hlm 166.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 246/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Rika Purwaningrum
NIM : 19133974A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Graptophyllum pictum* (L.) Griff.
Familia : Acanthaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963;1968) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-
404a-406b-409a-410b-411a 187. Acanthaceae
1a-2b-7b-32b-33a 43. Graptophyllum
1 Graptophyllum pictum (L.) Griff.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus: perdu atau pohon kecil, menahun, tumbuh tegak, tinggi 1.5-3 m. Akar : tunggang, bercabang, kuning muda hingga kuning kecoklatan. Batang : bulat atau bersegi empat tumpul, berkayu, padat, menebal di atas buku (nodus), bercabang banyak, arah tumbuh cabang condong ke atas, permukaan licin, gundul dan mengkilat, ungu gelap sampai hijau keunguan. Daun : tunggal, berhadapan; helaian daun berbentuk memanjang hingga lanset, panjang 8-20 cm, lebar 3-13 cm, pangkal runcing hingga meruncing, tepi rata hingga bergelombang, ujung runcing hingga meruncing, pertulangan menyirip, daging daun tipis dan lunak, permukaan licin, gundul dan mengkilat, permukaan berwarna hijau tua hingga ungu tua; tangkai daun bulat, gundul, panjang 0.5-1 cm. Bunga: majemuk tipe malai rata, di ketiak daun, panjang 3-12 cm, panjang tangkai bunga 0.5-0.75 cm; kelopak berbagi 5 cuping, sempit, hijau, panjang 3 mm; mahkota bunga merah tua, tabung mahkota melebar di bagian atas, bercuping 5; benangsari tersisip pada bagian tabung mahkota yang melebar (kerongkongan); tangkai putik pendek, bakal buah beruang 2. Buah : bentuk kapsul, memanjang. Biji : berjumlah 2 tiap buah, bentuk bulat.

Surakarta, 12 Desember 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Ir. Sutarni 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 236/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Rika Purwaningrum
NIM : 19133974A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Annona muricata* L.
Familia : Annonaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107b-186b-287b-288b-289b-298b-302b-308b-309b-310b-311a-312a-313b

10. Annonaceae

1b-10b-13b-17a

27. *Annona*

1a-2a

Annona muricata L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tegak, tinggi tanaman 3-8 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : batang tegak, bercabang banyak, berbentuk bulat, berkayu, diameter 5-10 cm, permukaan kulit batang halus tetapi kasar dan pecah-pecah seiring bertambahnya umur, terdapat lentisel, berwarna abu-abu kusam atau abu-abu, ranting berwarna coklat. Daun : tunggal, terletak berseling, helaian daun berbentuk memanjang hingga memanjang-lanset, panjang 5.5-18 cm, lebar 2.5-7.6 cm, ujung meruncing pendek, pangkal daun tumpul, tepi daun rata, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun mengkilat dan berwarna hijau tua, permukaan bawah daun kasar dan berwarna hijau muda; panjang tangkai daun 3-10 mm, permukaan halus, berwarna hijau. Bunga : tunggal, berdiri sendiri atau berpasangan dan berhadapan dengan daun, bau tak enak; panjang tangkai bunga 2.5 cm; kelopak bunga berwarna hijau kekuningan, berjumlah 3, berbentuk segitiga, panjang 4 mm; daun mahkota bunga berwarna kuning kehijauan, berjumlah 6 dalam dua lingkaran, 3 bagian luar lebih lebar, berbentuk bulat telur, panjang 3-5 cm, lebar 2-4 cm, tebal 3 mm, berdaging, 3 bagian dalam lebih kecil dan tipis, bulat, cekung dan tepi saling tumpang tindih, panjang 2-4 cm, lebar 1.5-3.5 cm; benang sari berjumlah banyak, dalam beberapa baris, panjang 4-5 mm, berbentuk perisai, tangkai benang sari berambut padat; putik berjumlah banyak dan berwarna putih, diameter 5 mm, dengan stigma lengket dan panjang tangkai putik 2-3 mm. Buah : buah sejati ganda tipe agregat/sinkarp, panjang 14-40 cm, diameter 10-18 cm, berbentuk bulat telur, hati atau lonjong, berwarna hijau tua ketika muda dan hijau kekuningan ketika masak, beratnya mencapai 500 g, ditutupi oleh duri yang panjangnya 6 mm, daging buah berwarna putih dan berair. Biji : bentuk memanjang, panjang 1-2 cm, berat 0.33-0.59 g, berwarna hitam ketika masak.

Surakarta, 12 Desember 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Perhitungan persentase bobot kering daun sirsak segar dan daun ungu segar

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100\%$$

Sampel	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
Daun sirsak	5000	1800	36
Daun ungu	6000	2500	42

Lampiran 3. Penetapan susut pengeringan

Sampel	Berat awal (gram)	Hasil (%)
Daun sirsak	1. 2,0	1. 6,3
	2. 2,0	2. 5,8
	3. 2,0	3. 5,3
Daun ungu	1. 2,0	1. 6,5
	2. 2,0	2. 6,0
	3. 2,0	3. 6,0

Lampiran 4. Perhitungan persentase rendemen hasil ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu

Sampel	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Daun binahong	500	145,831	29,1
Daun lidah buaya	500	172,056	34,4

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak (gram)}}{\text{berat serbuk (gram)}} \times 100\%$$

Lampiran 5. Pembuatan kotrol negatif DMSO 1%

Dibuat dengan mengambil DMSO sebanyak 1ml masukkan dalam botol gelap yang sudah disterilkan, kemudian tambahkan dengan aquadest steril sebanyak 100 ml kemudian tutup dengan penutup yang sudah steril, kocok ad larut. DMSO 1% siap digunakan.

Lampiran 6. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirsak tunggal dan daun ungu tunggal

1) Ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu tunggal

Timbang ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu sebanyak 5 gram masukkan dalam vial steril larutkan dengan 10 ml DMSO 1% aduk ad larut.

2) Ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu kombinasi 1 :1, 1:3, 3:1

Timbang masing-masing kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu l sebanyak 5gram masukkan dalam vial steril larutkan dengan 1 ml DMSO 1% aduk ad larut.

Lampiran 7. Gambar daun sirsak dan serbuk daun ungu



Daun sirsak



Daun ungu



Serbuk daun sirsak



Serbuk daun ungu

Lampiran 8. Gambar inkas, penggilingan serbuk, *moisture balance*, timbangan analitik, ayakan no 40, botol maserasi, evaporator, oven, inkubator.



Inkas



Penggilingan serbuk



Moisture balance



Evaporator



Inkubator



Ayakan no 40



Timbangan analitik



Botol maserasi

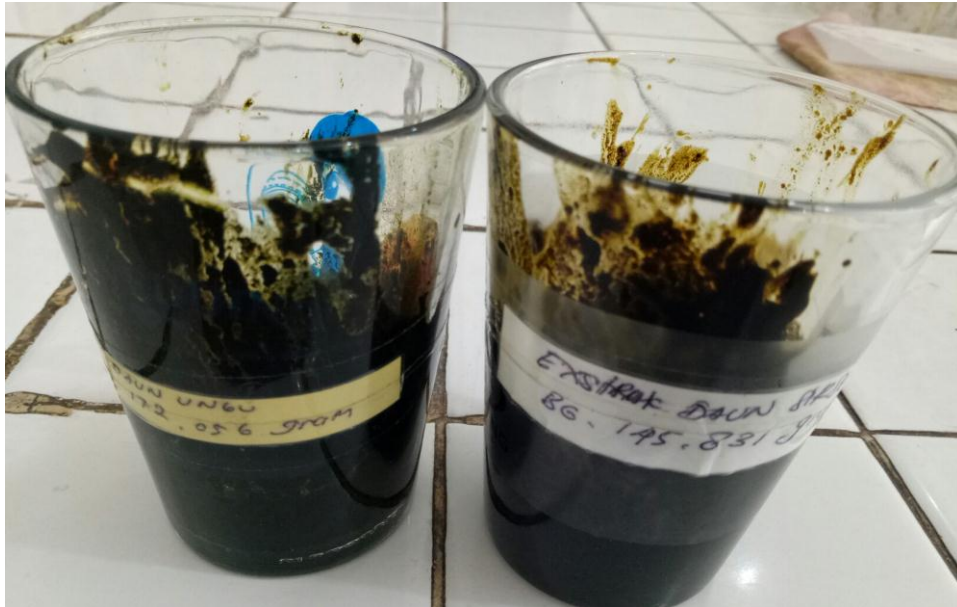


Vaccum Rotary

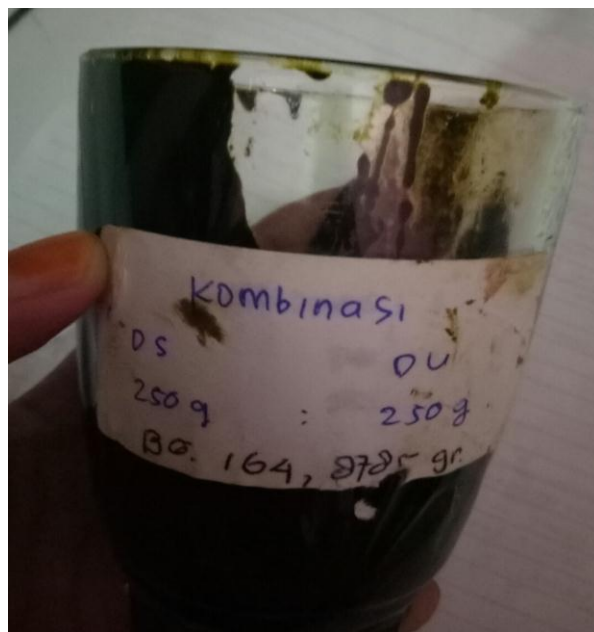


Inkubator

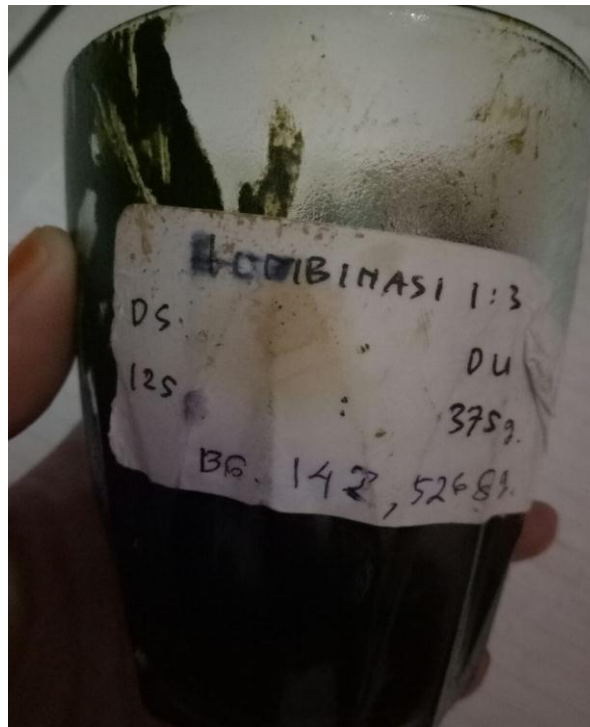
Lampiran 9. Hasil ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu tunggal dan kombinasi.



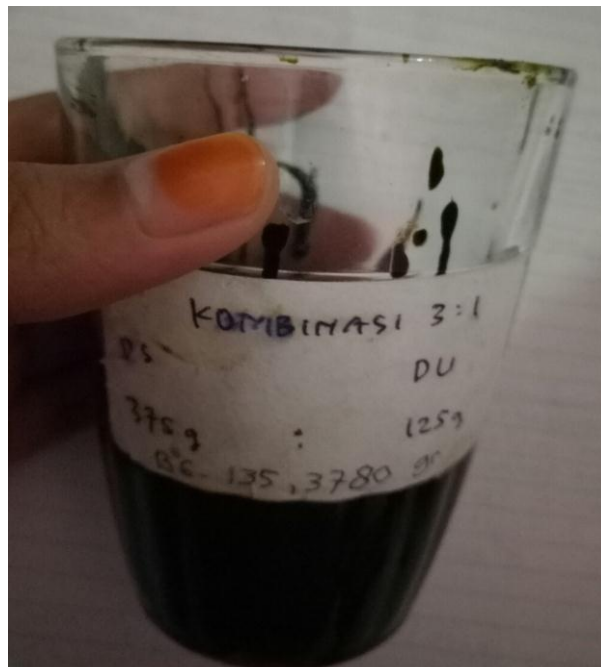
Ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu tunggal



Ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu kombinasi 1:1



Ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu kombinasi 1:3

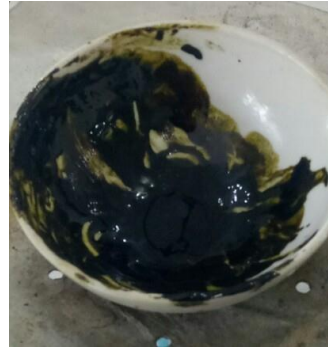


Ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu kombinasi 3:1

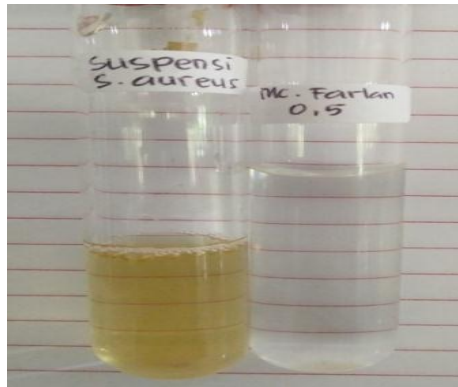
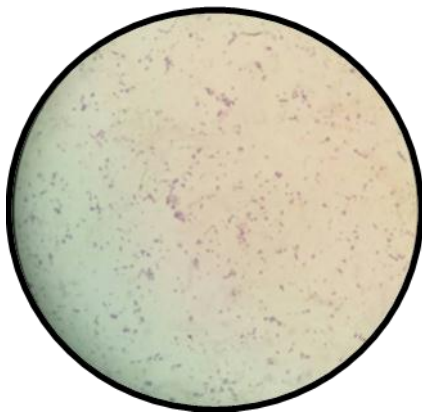
Lampiran 10. Hasil uji bebas etanol ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu tunggal .



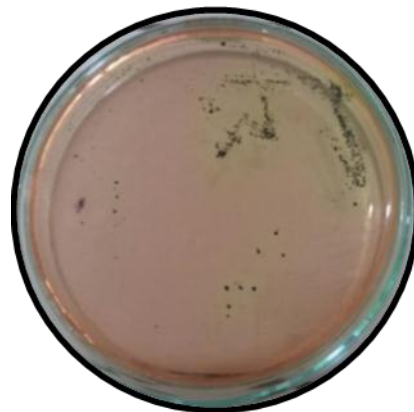
Uji bebas etanol daun ungu



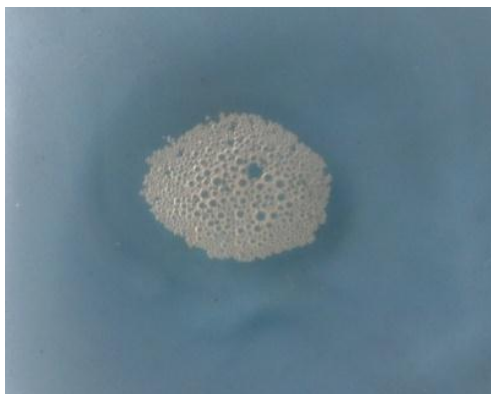
Uji bebas etanol daun sirsak

Lampiran 11. Hasil identifikasi *S. aureus* ATCC 25923Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

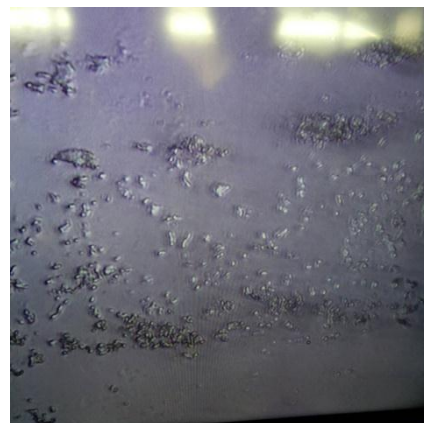
Pewarnaan Gram secara mikroskopis



Identifikasi bakteri dengan media VJA



Uji biokimia katalase



Uji biokimia koagulase

Lampiran 12. Identifikasi kandungan senyawa dengan metode KLT

Senyawa	UV 254	UV 366	Rx semprot
Flavonoid			

Baku pembanding : kuersetin

Perekasi semprot : sitoborat

Perhitungan Rf :

A. Baku kuersetin : a. $4 / 5,5 = 0,72$

B. Sampel :

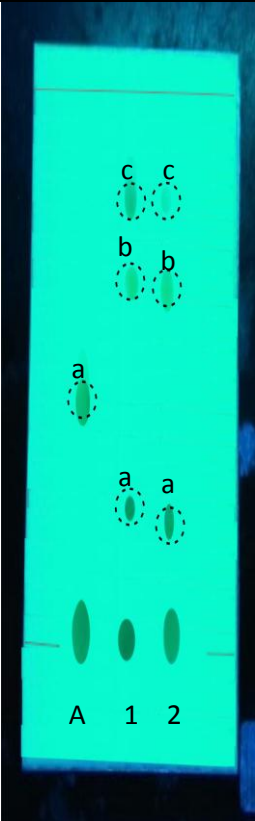
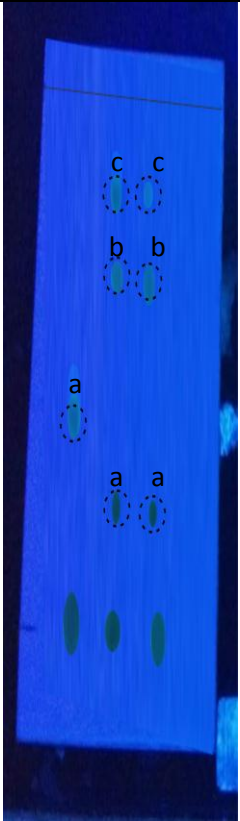
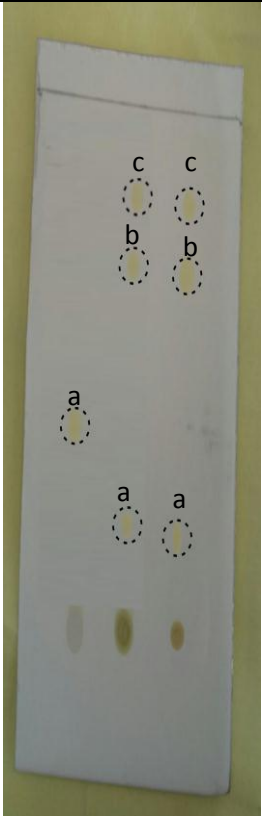
1. Ekstrak daun sirsak : a. $1,5 / 5,5 = 0,27$

b. $4 / 5,5 = 0,72$

c. $5 / 5,5 = 0,90$

2. Ekstrak daun ungu : a. $1,5 / 5,5 = 0,27$

b. $4 / 5,5 = 0,72$

Senyawa	UV 254	UV 366	Rx semprot
Alkaloid			

Baku pembanding : alkaloid

Perekasi semprot : dragendrof

Perhitungan Rf :

A. Baku alkaoid : a. $3,5 / 5,5 = 0,78$

B. Sampel :

1. Ekstrak daun sirsak : a. $1,5 / 5,5 = 0,27$

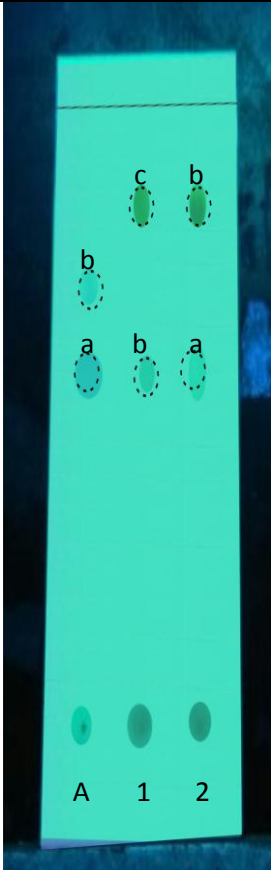
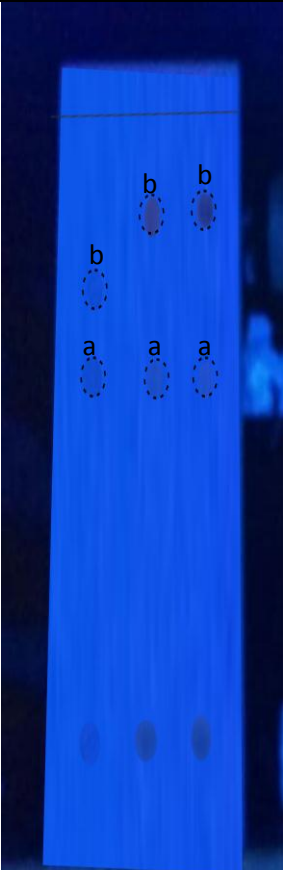
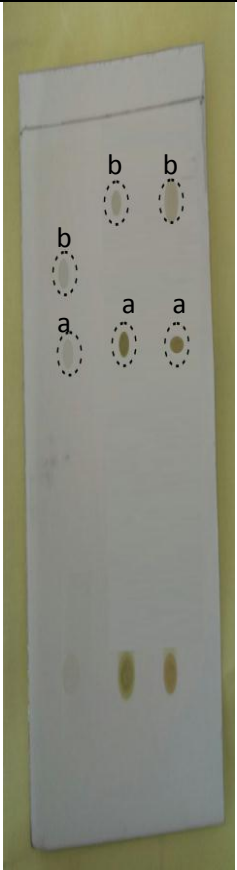
b. $4 / 5,5 = 0,72$

d. $4,5 / 5,5 = 0,81$

2. Ekstrak daun ungu : a. $1,4 / 5,5 = 0,25$

b. $4 / 5,5 = 0,72$

c. $4,5 / 5,5 = 0,81$

Senyawa	UV 254	UV 366	Rx semprot
Tanin			

Baku pembanding : asam galat

Perekasi semprot : FeCl_3

Perhitungan Rf :

A. Baku asam galat : a. $3 / 5 = 0,6$
 b. $3,5 / 4,5 = 0,78$

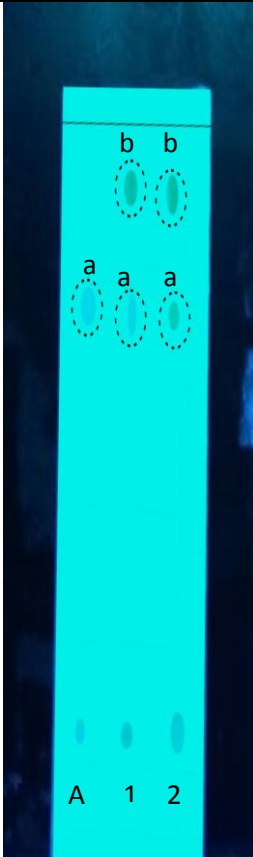
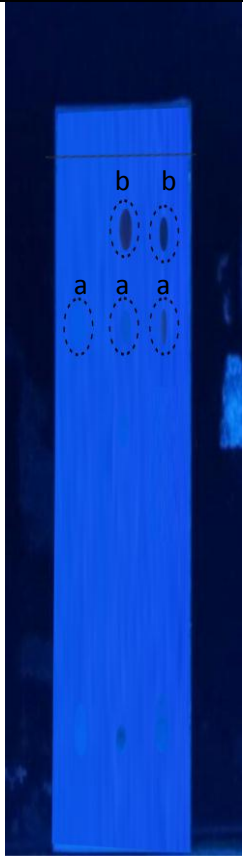

B. Sampel :

1. Ekstrak daun sirsak : a. $3 / 5 = 0,6$

b. $4,5 / 5 = 0,9$

2. Ekstrak daun ungu : a. $3 / 5 = 0,6$

b. $4,5 / 5 = 0,9$

Senyawa	UV 254	UV 366	Rx semprot
Saponin			

Baku pembanding : Saponin
Perekasi semprot : Lieberman Burchard

Perhitungan Rf :

A. Baku saponin : a. $3,5 / 5 = 0,7$

B. Sampel :

1. Ekstrak daun sirsak : a. $3,5 / 5 = 0,7$

b. $4,5 / 5 = 0,9$

2. Ekstrak daun ungu : a. $3,5 / 5 = 0,7$

b. $4,5 / 5 = 0,9$

Lampiran 12. Dilusi ekstrak daun sirsak dan daun ungu tunggal dan kombinasi

Dilusi ekstrak etanol tunggal daun sirsak

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



Dilusi ekstrak etanol daun ungu

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



Kombinasi 1:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



Kombinasi 1:3 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



Kombinasi 3:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu

Replikasi I



Replikasi II



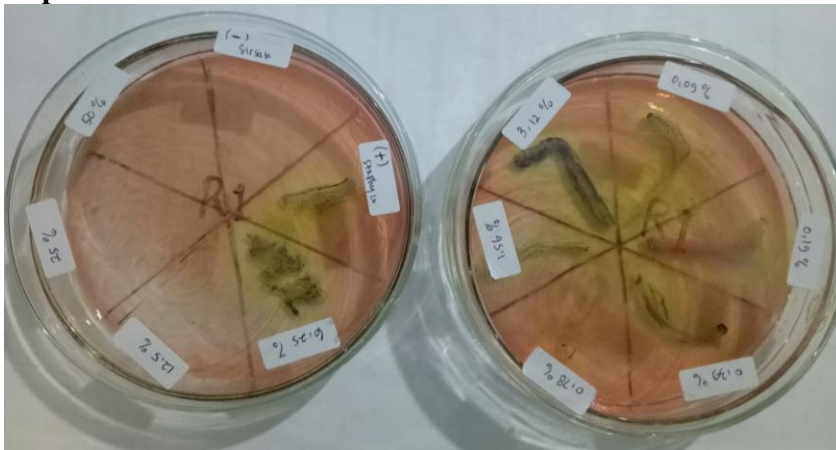
Replikasi III



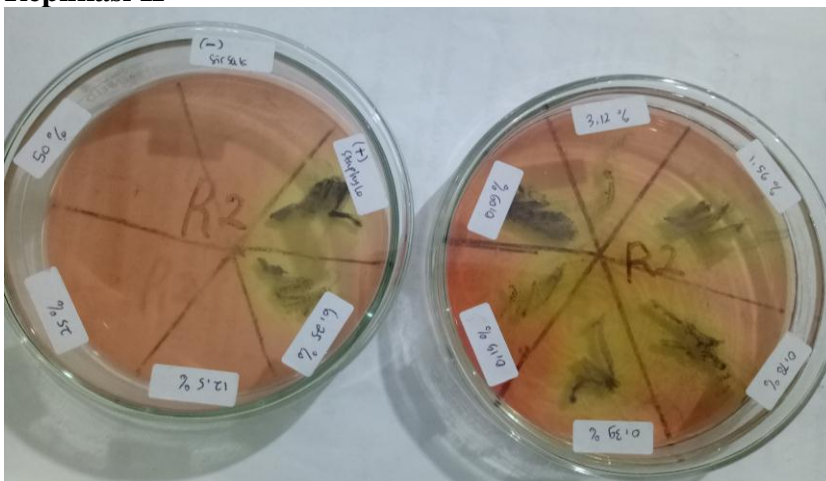
Lampiran 13. Inokulasi hasil dilusi pada media VJA

Tunggal ekstrak etanol daun sirsak

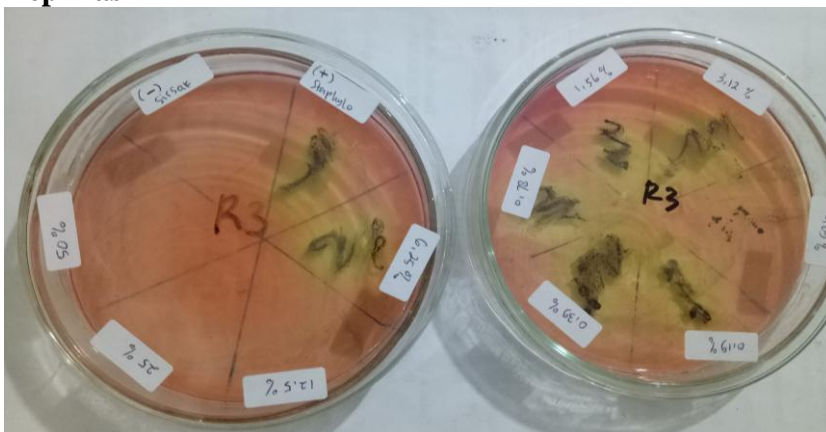
Replikasi I



Replikasi II

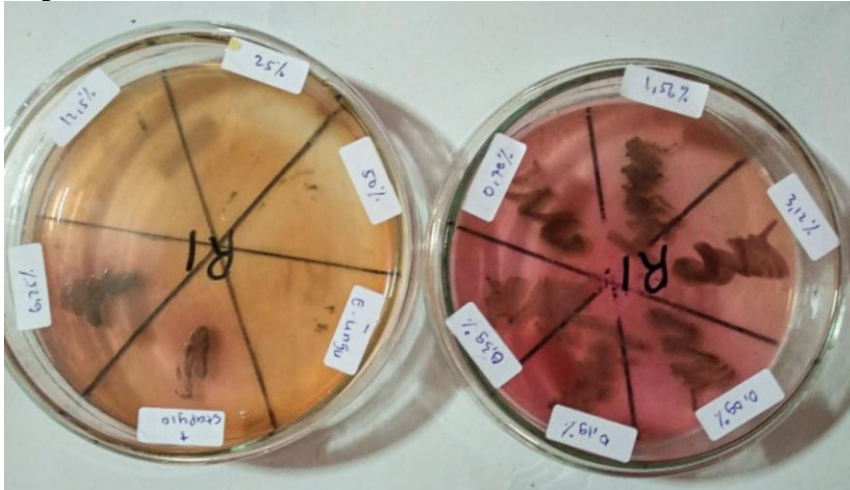


Replikasi III

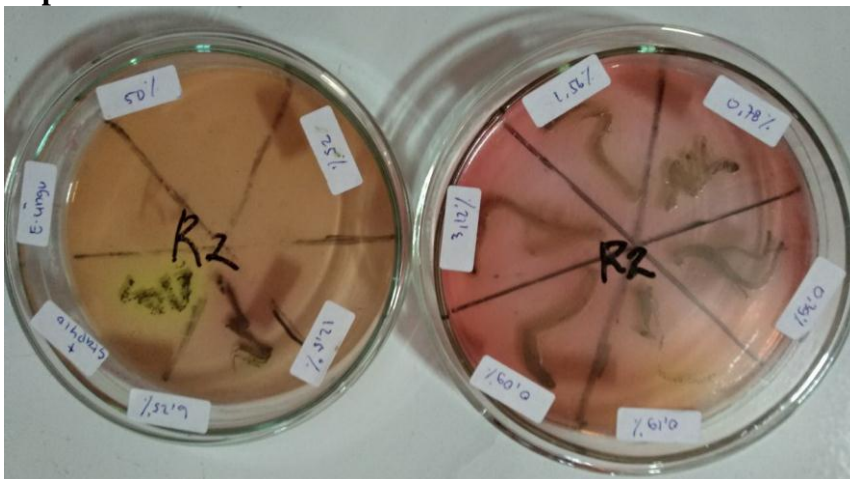


Tunggal ekstrak etanol daun ungu

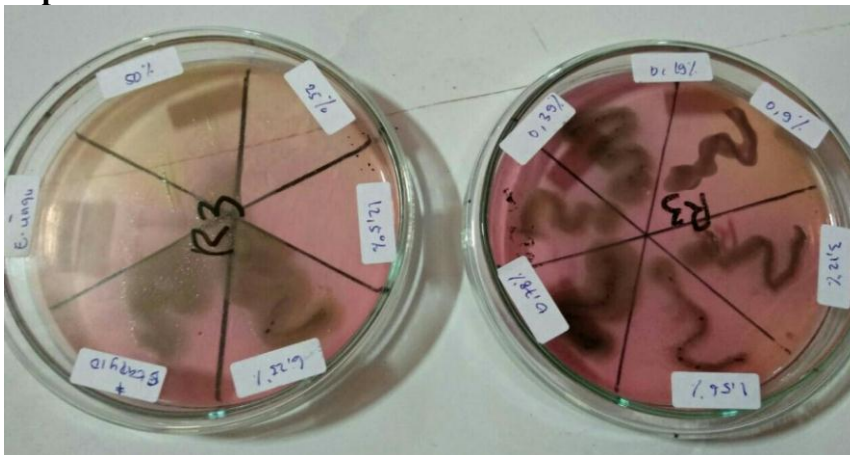
Replikasi I



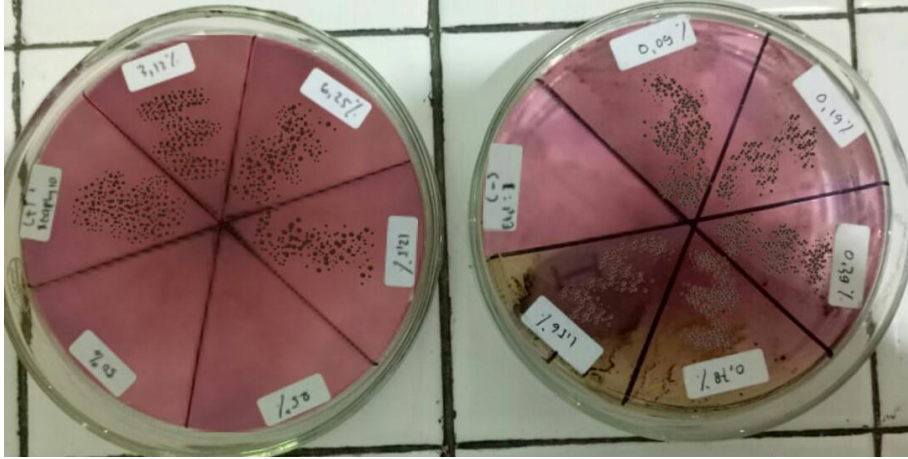
Replikasi II



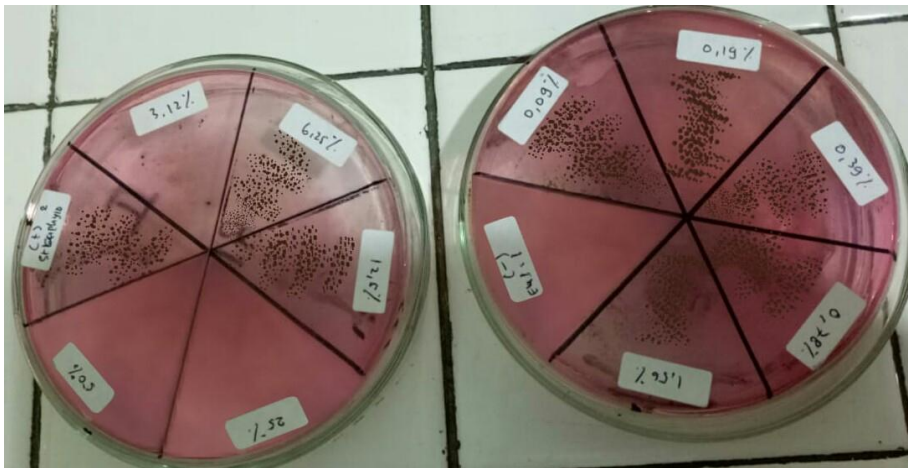
Replikasi III



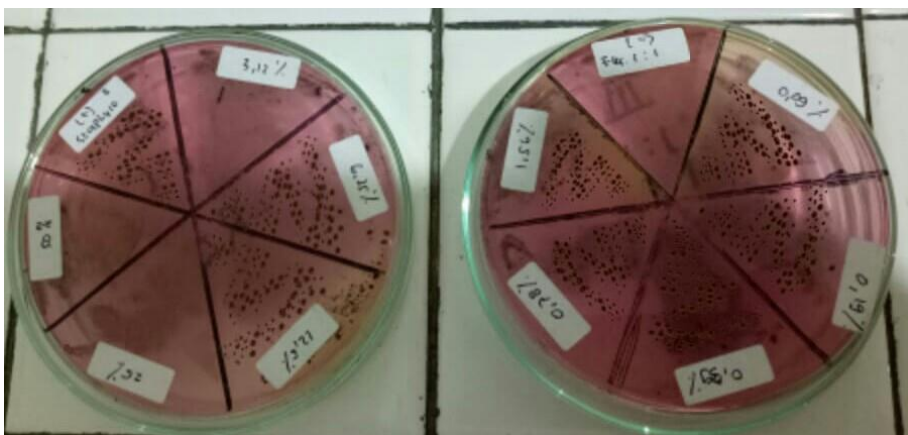
Kombinasi 1:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu
Replikasi I



Replikasi II



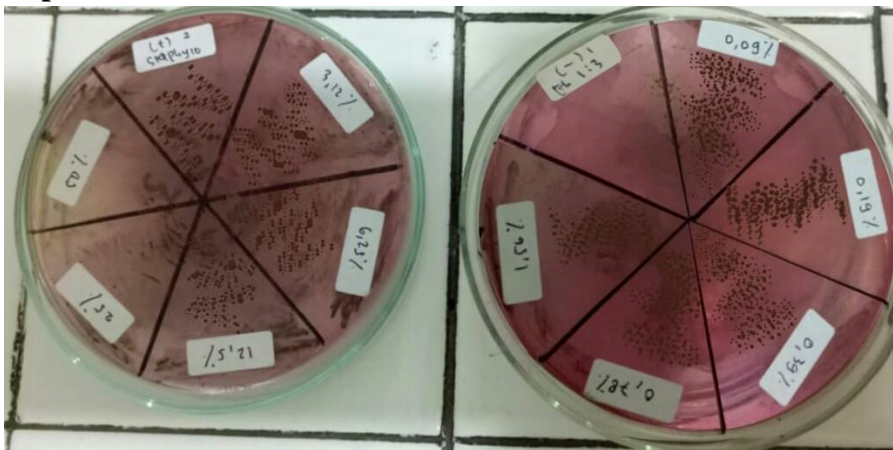
Replikasi III



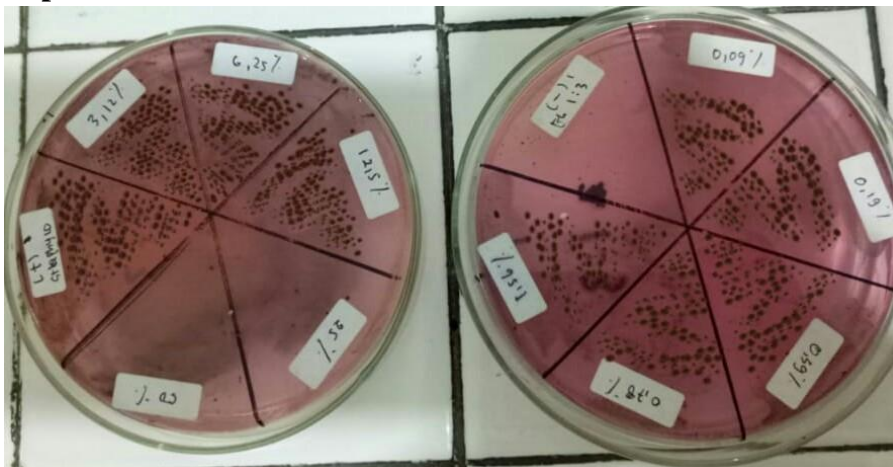
Kombinasi 1:3 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu
Replikasi I



Replikasi II

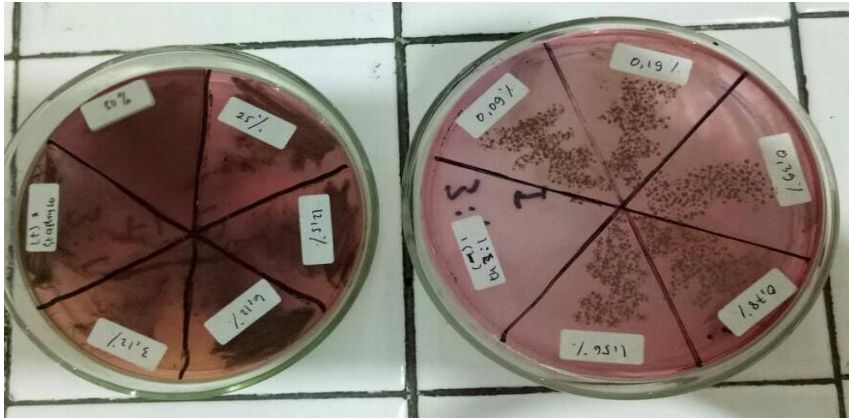


Replikasi III



Kombinasi 3:1 ekstrak etanol daun sirsak dan daun ungu

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

