

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK
DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN DAUN
BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
SAMPEL PUS DI RSUD Dr. MOEWARDI**

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Sarjana Sains Terapan



Oleh :

Nanda Sandhy Astuti
07140313 N

**PROGRAM STUDI D-IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

Tugas Akhir :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN SIRSAK
(*Annona muricata L.*) DAN DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.)
Steenis) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
SAMPEL PUS DI RSUD Dr. MOEWARDI**

Oleh :

Nanda Sandhy Astuti

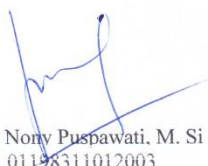
07140313 N

Surakarta, 16 Juli 2018

Menyetujui Untuk Sidang Tugas Akhir

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Dra. Nony Puspawati, M. Si
NIS. 01198311012003



Rahmat Budi Nugroho, S. Si., M. Si
NIS. 01201403162182

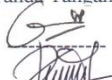
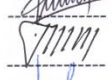

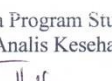
LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN SIRSAK
(*Annona muricata L.*) DAN DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.)
Steenis) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
SAMPEL PUS DI RSUD Dr. MOEWARDI**

Oleh :
Nanda Sandhy Astuti
07140313 N

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 21 Juli 2018

Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I : <u>Guruh Sri Pamungkas, S. Pt., M. Si</u>		-----
Penguji II : <u>Rizal Maarif Rukmana, S. Si, M. Sc</u>		-----
Penguji III : <u>Rahmat Budi Nugroho, S. Si., M. Sc</u>		-----
Penguji IV : <u>Dra. Nony Puspawati, M. Si</u>		-----

Mengetahui,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Setia Budi




Dr. Marsetyawan HNE, M.Sc., Ph. D.
NIDN. 0029094802

Ketua Program Studi
D-IV Analisis Kesehatan



Tri Mulyowati, SKM, M.Sc
NIS. 012001112162151

LEMBAR PERNYATAAN

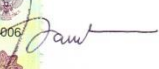
Saya menyatakan bahwa tugas akhir ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau pernah diterbitkan oleh orang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

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

Surakarta, Juli 2018

METERAI
TEMPEL
FE770AFF224618006

6000
ENAM RIBU RUPIAH


Nanda Sandhy Astuti
NIM : 07140313 N

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT yang selalu memberikan nikmat yang tidak terbatas, hingga terselesaikannya skripsi ini.
2. Bapak dan ibuku tercinta yang selalu memberikan semangat dan doa selama ini, selalu memberikan yang dibutuhkan penulis dalam penyusunan karya ini.
3. Suamiku Tersayang yang selalu mensupport dan mendoakan penulis dalam menyusun skripsi
4. Adikku (Dapeng) yang selalu mendukung kakaknya dengan caranya sendiri.
5. Sahabatku (Lia dan Riris) yang selalu memberikan semangat, susah dan senang sama-sama selama penyusunan karya ini.
6. Teman-teman seperjuangan di kost bu Endang (Umi, Nabylla, Mujek, Risma, Okta)
7. Teman-teman D-IV analis kesehatan sepraktek, seteori, seangkatan yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kita panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulisan skripsi ini yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* SAMPEL PUS DI RSUD Dr. MOEWARDI” dapat diselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya guna memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Terapan Program Studi D-IV Analis Kesehatan pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.

Adapun dalam penulisan skripsi ini penulis banyak menerima bantuan berupa bimbingan, saran, petunjuk serta keterangan lisan dan tulisan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati yang tulus dan ikhlas penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa, yang telah memberikan kelancaran dan kesabaran dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Prof. Dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D., selaku dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Tri Mulyowati, SKM, M.Sc., selaku ketua Program Studi D-IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.

5. Dra. Nony Puspawati, M. Si., selaku pembimbing utama yang telah sabar memberikan banyak nasihat, petunjuk, motivasi dan pengarahan sehingga terselesaikan penulisan skripsi.
6. Rahmat Budi Nugroho, S. Si., M. Sc., selaku pembimbing pendamping yang telah sabar memberikan pengarahan dan bimbingannya dalam penulisan skripsi.
7. Tim Penguji yang telah memberikan kontribusi dan masukan kepada peneliti.
8. Bapak Ibu Dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Seti Budi, Surakarta serta seluruh staf karyawan.
9. Kedua Orang Tua yang telah memberi dukungan, do'a dan motivasi.
10. Suamiku yang telah mensupport dan mendoakan serta membantu penulis untuk membantu menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
11. Sahabatku Riris Audriyani dan Yulia Triana yang selalu membantu terselesaikannya penyusunan skripsi ini.
12. Serta teman-teman satu angkatan 2014 Program Studi D-IV Analisis Kesehatan, dan semua pihak yang telah memberikan dukungan, semangat dan ikhlas membantu terselesaikannya penyusunan skripsi ini.

Sebagaimana manusia yang tidak luput dari kesalahan dan kekhilafan, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan untuk melengkapi dan memperbaiki.

Akhir kata semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan Ilmu Kesehatan dan almamater tercinta.

Surakarta, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iv
PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	5
1. Sistematika Tanaman.....	5
2. Morfologi Tanaman.....	6
3. Khasiat Tanaman.....	6
4. Kandungan Kimia Tanaman.....	6
a. Flavonoid.....	6
b. Tanin.....	7
c. Saponin.....	7
B. Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis).....	7
1. Sistematika Tanaman.....	7
2. Morfologi Tanaman.....	8
3. Kandungan Kimia Tanaman.....	8
4. Khasiat Tanaman.....	8

C.	Simplisia.....	9
1.	Pengertian Simplisia.....	9
2.	Pemilihan Simplisia.....	9
3.	Pengeringan Simplisia.....	9
D.	Ekstraksi.....	10
1.	Pengertian Ekstraksi.....	10
2.	Maserasi.....	10
3.	Pelarut.....	11
E.	<i>Staphylococcus aureus</i>	11
1.	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.	Sistematika Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	11
3.	Morfologi dan Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	12
4.	Patogenesis.....	12
F.	Antibakteri.....	13
G.	Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	14
H.	Antibiotik.....	14
I.	Landasan Teori.....	15
J.	Kerangka Pikir Penelitian.....	19
K.	Hipotesis.....	20
BAB III METODE PENELITIAN.....		21
A.	Rancangan Penelitian.....	21
B.	Waktu dan Tempat.....	21
C.	Populasi dan Sampel.....	21
1.	Populasi.....	21
2.	Sampel.....	21
D.	Variabel Penelitian.....	22
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	22
2.	Klasifikasi Variabel Utama.....	22
a.	Variabel bebas.....	22
b.	Variabel tergantung.....	22
3.	Defenisi operasional variabel utama.....	22
E.	Bahan dan Alat.....	23
1.	Bahan Penelitian.....	23
a.	Sampel.....	23
b.	Bakteri uji.....	23
c.	Media.....	23
2.	Alat.....	24
F.	Prosedur Penelitian.....	24
1.	Determinasi Tanaman.....	24
2.	Pembuatan Serbuk	24
3.	Penentuan Nilai Kadar Air Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong.....	24
4.	Pembuatan Ekstrak Etanolik Metode Maserasi.....	25
5.	Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Binahong dan Daun Sirsak.....	25

6. Pembuatan Perbandingan serbuk daun.....	26
7. Sterilisasi Alat.....	26
8. Pembuatan Media.....	27
a. Pembuatan Medium <i>Brain Heart Infusion</i> (BHI).....	27
b. Pembuatan Medium <i>Mueller Hilton Agar</i> (MHA).....	27
c. Pembuatan Medium <i>Vogel Johnson Agar</i> (VJA).....	27
9. Identifikasi bakteri dari Sampel Pus Pasien dan Kultur Laboratorium.....	28
10. Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	29
G. Analisis Data.....	29
1. Uji Normalitas.....	30
2. Analisis of Varians (One Way ANOVA).....	30
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	32
A. Determinasi tanaman sirsak.....	32
B. Pengambilan sampel.....	32
C. Pembuatan serbuk daun sirsak dan daun binahong.....	33
D. Penetapan kadar air serbuk daun sirsak dan daun binahong.....	33
E. Hasil Pembuatan Ekstrak Maserasi Daun Sirsak dan Daun Binahong.....	34
F. Uji bebas etanol ekstrak Daun Sirsak dan Daun Binahong..	35
G. Hasil Identifikasi kandungan senyawa kimia.....	36
H. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	39
I. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	43
BAB V PENUTUP.....	51
A. Kesimpulan.....	51
B. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).	5
Gambar 2. Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis).	8
Gambar 3. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	11
Gambar 4. Mikroskopis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari Isolate Pus.....	39
Gambar 5. Mikroskopis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari Laboratorium	40
Gambar 6. Koloni bakteri <i>staphylococcus aureus</i> dari isolat pus pasien.	40
Gambar 7. Koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari kultur laboratorium.	41
Gambar 8. Uji katalase bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari Pus pasien	42
Gambar 9. Uji katalase dari bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari kultur Laboratorium.	42
Gambar 10. Uji Koagulase pus pasien dan Kultur Laboratorium	43
Gambar 11. Perbandingan zona hambat dari kultur Laboratorium	45
Gambar 12. Zona hambat dari Isolate pus pasien.....	46
Gambar 13. Perbandingan Zona Hambat dari kombinasi Ekstrak daun sirsak dan daun binaong terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dari kultur laboratorium dan isolate pus pasien.....	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbandingan Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong	26
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong.	34
Tabel 3. Presentase bobot ekstrak maserasi Daun Sirsak dan Daun Binahong.	35
Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak Daun Sirsak dan Daun Binahong.	35
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk Daun Sirsak	37
Tabel 6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk Daun Binahong.....	38
Tabel 7. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik Daun Sirsak dan Daun Binahong terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari kultur Laboratorium.	44
Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik Daun Sirsak dan Daun Binahong terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari isolate Pus pasien.	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi Daun Sirsak	54
Lampiran 2. Determinasi Daun Binahong	55
Lampiran 3. Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong	56
Lampiran 4. Penetapan Kadar Air.....	57
Lampiran 5. Persentase Bobot Ekstrak Maserasi Daun Sirsak dan Daun Binahong.....	58
Lampiran 6. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan konsentrasi 80%	60
Lampiran 7. Uji Senyawa Kimia.....	61
Lampiran 8. Uji Stastistik Kolmogorov-Smirnov Test.....	62
Lampiran 9. Uji Statistik One Way Anova	63
Lampiran 10. Ethical Clearance.....	65
Lampiran 11. Bukti pengambilan Sampel Isolate pus pasien di RSUD Dr. Moewardi.....	66

INTISARI

Astuti, Nanda S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap *Staphylococcus aureus* sampel Pus Pasien di RSUD Dr.Moewardi . Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Salah satu bakteri penyebab penyakit infeksi adalah *Staphylococcus aureus*, salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat herbal adalah Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.)Steenis). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya daya hambat aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik kombinasi daun sirsak dan daun binahong.

Ekstraksi tanaman dilakukan menggunakan metode maserasi. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan pengujian secara makroskopis dengan media Vogel Jonshon Agar (VJA) dan pengujian secara mikroskopis dengan pengecatan gram, uji koagulase dan uji katalase. Identifikasi bakteri menggunakan media Mueller Hilton Agar (MHA) dengan DMSO sebagai kontrol negatif dan antibiotik Gentamicin sebagai kontrol positif. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu dengan konsentrasi 80% dengan menggunakan lima perbandingan serbuk daun sirsak dan daun binahong yaitu 0:1, 1:0, 1:1, 1:2, 2:1. Pengujian daya hambat teradap pertumbuhan bakteri dilakukan dengan metode difusi.

Hasil penelitian dari lima perbandingan ekstrak etanolik daun sirsak dan daun binahong dengan menggunakan konsentrasi 80% yaitu dari sampel kultur laboratorium didapatkan hasil 0:1 (10,3 mm) 1:0 (9,0 mm) 1:1(9,3 mm) 1:2(8,7 mm) 2:1(9,0 mm) sedangkan pada sampel isolat pus pasien rumah sakit didapatkan hasil 0:1 (11,3 mm) 1:0 (9,3 mm) 1:1(10,6 mm) 1:2(10 mm) 2:1(11 mm). Hasil uji aktivitas antibakteri tersebut dapat disimpulkan bahwa daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dari kombinasi daun sirsak dan daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus*, Daun Sirsak dan Daun Binahong, Ekstrak Etanolik.

ABSTRACT

Astuti, Nanda S. 2018. Antibacterial Aktivty Test on Sirsak Leaf (*Annona muricata* L.) and Binahong Leaf (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) againts *Staphylococcus aureus* bacterial of Pus Sample in RSUD Dr.Moewardi . Bachelor of Applied Science in Medical Laboratory Technology Program, Health Science Faculty, Setia Budi University, Surakarta

Infectious disease is one of the health problems in Indonesia. One of the bacteria that causes infectious diseases is *Staphylococcus aureus*, one of the plants that can be used as herbal medicine is Soursop Leaf (*Annona muricata* L.) and Binahong Leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). This research aim to know the inhibition of antibacterial activity from ethanolic extract combination of soursop leaf and binahong leaf

Plant extraction using maceration method. Bacterial isolation was carried out using macroscopic testing with *Vogel Jonshon Agar* (VJA) media and microscopic testing with gram staining, coagulase test and catalase test. Identification of bacteria using *Mueller Hilton Agar* (MHA) media with DMSO as a negative control and Gentamicin as a positive control. The concentration used to test antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* is with a concentration of 80% using five comparisons of soursop leaves and binahong leaves, namely 0: 1, 1: 0, 1: 1, 1: 2, 2: 1. Testing the inhibitory power against bacterial growth is done by diffusion method.

The results from five soursop leaves and binahong leaves ethanolic extract which use 80% concentration from laboratory culture showed 0: 1 (10,3 mm) 1: 0 (9,0 mm) 1: 1 (9,3 mm)) 1: 2 (8,7 mm) 2: 1 (9,0 mm) and from hospital pus patient showed 0: 1 (11,3 mm) 1: 0 (9,3 mm) 1: 1 (10,6 mm) 1: 2 (10 mm) 2: 1 (11 mm). Results antibacterial activity test conclude that Anonna muricata leaves ethanolic extract higher than combination from both against *Staphylococcus aureus*.

Keyword : *Staphylococcus aureus*, Soursop Leaves and Binahong Leaves, Ethanolic Extract.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Kondisi sanitasi yang tidak cukup memadai merupakan salah satu cara penularan penyakit infeksi. Pengobatan yang digunakan untuk terapi penyakit infeksi biasanya berupa obat modern tetapi obat modern tersebut berisiko dengan timbulnya efek samping yang tidak diinginkan, bahkan tak jarang dapat menimbulkan resistensi bakteri. Untuk itu penggunaan obat-obatan yang berasal dari alam dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan, hal ini disebabkan karena obat tradisional relatif mudah didapat. Didukung dengan adanya bahan obat dari alam yang tumbuh berlimpah di Indonesia, sehingga penggunaan obat tradisional menjadi semakin meningkat dan berkembang luas di masyarakat (Sari *et al.*, 2010).

Manusia memanfaatkan tanaman yang berkhasiat sebagai obat herbal salah satunya adalah Sirsak (*Annona muricata* L.) Kegunaan sirsak adalah sebagai antibakteri, antivirus, antiparasit, kardiotonik, dekongestan, menurunkan panas, penenang, membasmi kutu, dan sebagai obat cacing. Daun sirsak mengandung saponin, tanin, flavonoid yang mana senyawa ini dapat berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik, sehingga dapat dimungkinkan bahwa tanaman yang mengandung senyawa ini dapat digunakan sebagai antibakteri (Sari *et al.*, 2010).

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) merupakan tanaman yang memiliki banyak khasiat sebagai pengobatan tradisional karena seluruh bagian tanaman menjalar ini berkhasiat mulai dari akar, batang dan daunnya. Secara empiris, tanaman binahong memiliki beberapa khasiat di antaranya, mempercepat pemulihan kesehatan setelah operasi, melahirkan, khitan, segala luka-luka dalam, dan radang usus. Tanaman binahong diketahui juga memiliki kandungan senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, saponin (Wardhani & Sulistyani, 2012).

Infeksi luka operasi merupakan bagian dari infeksi nosokomial. Salah satu bakteri penyebab infeksi luka operasi adalah *Staphylococcus aureus*, Sampel pus infeksi luka operasi diambil dari RSUD Dr.Moewardi. Pus adalah suatu cairan hasil proses peradangan dari sel-sel leukosit. Pus merupakan suatu campuran netrofil dan bakteri, infeksi bakteri sering menyebabkan konsentrasi netrofil lebih tinggi di dalam jaringan dan banyak dari sel ini mati (Levinson, 2004).

Staphylococcus aureus merupakan spesies bagian dari genus *Staphylococcus*. Pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi pada luka dan furunkel. Ciri khas infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Infeksi superfisial ini dapat menyebar (metastatik) ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomielitis, artritis, endokarditis dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar mammae. Bila terjadi bakteriemia, infeksi dapat bermetastasis ke berbagai organ (Yuwono, 2011).

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.)Steenis) terhadap *Staphylococcus aureus*.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan suatu hal yang menjadi permasalahan bagi peneliti yakni :

1. Manakah dari kombinasi ekstrak etanolik daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Apakah dari kombinasi ekstrak etanolik daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) mempunyai efek sinergisme?
3. Manakah dari sampel Kultur Laboratorium dan Isolate Pus Pasien yang lebih sensitif pada ekstrak etanolik daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian mengenai ekstrak daun sirsak dan daun binahong ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut :

1. Mengetahui apakah ekstrak etanolik pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki aktivitas antibakteri yang paling aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui dari kombinasi ekstrak etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai efek sinergisme atau tidak.
3. Mengetahui dari sampel Kultur Laboratorium dan Isolate Pus Pasien yang lebih sensitif pada ekstrak etanolik daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

- a. Dari hasil penelitian dapat memberikan informasi terhadap masyarakat akan khasiat dan manfaat dari ekstrak etanolik Daun Sirsak dan Daun Binahong sebagai pengobatan infeksi bakteri.
- b. Penelitian ini dapat digunakan peneliti lainnya sebagai literatur untuk penelitian lanjutan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi secara lengkap dari tanaman Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Viridiplantae

Superdivisio : Embryophyta

Divisi : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Ordo : Magnoliales

Familia : Annonaceae

Genus : *Annona*

Spesies : *Annona muricata* L. (Haryanto, 2012).



Gambar 1. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) (Haryanto 2012).

2. Morfologi Tanaman

Sirsak berupa tumbuhan yang berbatang utama berukuran kecil dan rendah. Daunnya memiliki bentuk yang bulat agak tebal dan pada permukaan atas terdapat bagian yang halus berwarna hijau tua sedang pada bagian bawah mempunyai warna yang lebih muda. Tumbuhan ini dapat tumbuh disembarang tempat. Tetapi untuk memperoleh hasil buah yang banyak maka harus ditanam ditanah yang cukup mengandung air. Di Indonesia, sirsak tumbuh dengan baik pada daerah ketinggian kurang dari 1000 mdpl (Haryanto, 2012)

3. Khasiat Tanaman

Daun sirsak memiliki kandungan senyawa asetogenin yang berkhasiat sebagai antitumor. Kandungan kimia sirsak yang berperan penting untuk obat adalah flavonoid. Dalam kebanyakan kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi organisme, seperti bakteri atau virus (Tuna *et al.*, 2015).

4. Kandungan Kimia Tanaman

a. Flavonoid

Flavonoid sebagai antimikroba memiliki mekanisme kerja yang dapat dibagi menjadi tiga yaitu menghambat fungsi membran sel, menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat metabolisme energi. mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah bentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cushnie *et al.*, 2005).

b. Tanin

Tanin merupakan golongan bahan alam lain yang memberikan rasa kesat dan pahit dalam tanaman dan makanan. Golongan ini terdiri dari senyawa polifenol larut-air, sesuai dengan namanya tanin dapat terhidrolisis oleh basa untuk membentuk asam sederhana dan gula (Heinrich *et al.*, 2010).

c. Saponin

Menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat meningkatkan kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar merupakan mekanisme kerja sebagai antibakteri dari saponin (Nuria *et al.*, 2009).

B. Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi secara lengkap dari tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Superdivisio : Spermatopyta
 Divisio : Magnoliopyta
 Class : Magnoliopssida
 Sub-class : Hamamelidae
 Ordo : Caryopyllales
 Familia : Basellaceae
 Genus : *Anredera*
 Spesies : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Mus, 2008).



Gambar 2. Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) (Mus 2008).

2. Morfologi Tanaman

Tanaman binahong memiliki daun tunggal, daun bertangkai pendek tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung rancing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin. Bunga majemuk berbentuk Tandan, bertangkai panjang, muncul diketiak daun, mahkota berwarna krem keputi-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum, akar berbentuk rimpang, berdaging lunak (Manoi, 2009).

3. Kandungan Kimia Tanaman

Kandungan kimia yang terdapat pada Daun Binahong antara lain Flavonoid, asam oleanolik, Alkaloid, protein, asam askorbat dan saponin. Berbagai kandungan kimia tersebut menyebabkan daun binahong dapat bersifat sebagai antibakteri, antivirus, antiinflamasi, analgesik dan antioksidan (Hariana, 2013).

4. Khasiat Tanaman

Daun Binahong berkhasiat untuk meningkatkan daya tubuh, memperkuat daya tahan sel teradap infeksi sekaligus memperbaiki sel yang rusak, melancarkan

dan menormalkan peredaran darah serta tekanan darah, mencegah stroke, mengatasi diabetes, serta mengobati penyakit maag (Hariana, 2013).

C. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan bahan simplisia tidak lebih dari 60°. Simplisia dikelompokkan menjadi beberapa macam yaitu simplisia segar adalah bahan alam yang belum dikeringkan kemudian simplisia nabati yaitu simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya (FHI, 2013).

2. Pemilihan Simplisia

Proses pemilihan simplisia digunakan untuk memisahkan simplisia dari benda asing yang berbahaya atau tidak dalam jumlah kecil maupun besar yang biasanya merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan dan kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Isdanto, 2011).

3. Pengeringan Simplisia

Proses pengeringan yang dilakukan bertujuan mengurangi kadar air, dengan demikian dapat mencegah pertumbuhan bakteri dan cendawan, selain itu mudah dihaluskan dan mudah dalam penyimpanan. Pengeringan bagian-bagian

tanaman yang telah dipanen dan dibersihkan dapat dilakukan secara langsung di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam atau diangin-anginkan di tempat yang teduh ataupun dipanaskan pada suhu tertentu di ruang pengeringan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengering yang suhu kelembabannya diatur. Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringan. Suhu yang terbaik adalah tidak melebihi 60⁰C (Kusumadewi, 2008).

D. Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut berada dalam sel namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Akhyar, 2010).

2. Maserasi

Maserasi (macerare = mengairi, melunakkan) merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang digunakan pada temperatur ruangan. Metode maserasi memiliki Kelebihan dan kekurangan. Kelebihan metode ini murah dan mudah dilakukan, kemudian kekurangan dari metode ini yaitu waktu yang digunakan lama, pelarut yang digunakan cukup banyak, kemungkinan senyawa yang diinginkan bisa saja hilang karena beberapa senyawa mungkin sulit diekstraksi dalam suhu kamar (Husnah, 2009).

3. Pelarut

Pelarut adalah suatu zat yang melarutkan bahan lain untuk membentuk larutan. Pelarut pada umumnya cair pada suhu kamar dalam bentuk padat (pelarut ion) dan dalam bentuk gas (karbon dioksida) (Wypych, 2001).

E. *Staphylococcus aureus*

1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Soedarto, 2015)



Gambar 3. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Soedarto, 2015).

2. Sistematika Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus mempunyai faktor koagulase darah yang mampu menggumpalkan fibrinogen didalam plasma untuk melindungi diri terhadap

fagositosis dan respon imun hospes. Bakteri ini tahan panas sampai setinggi 50°C, kadar garam yang tinggi dan tahan kekeringan. Koloni staphylococci berukuran besar dengan garis tengah 6-8 mm dan berwarna bening. Banyak strain koloni bakteri ini membentuk pigmen yang berwarna kuning gading atau jingga. *Staphylococcus aureus* tersebar luas di alam dan ada yang hidup sebagai flora normal pada manusia yang terdapat diaksila, daerah inguinal dan parineal, dan lubang hidung (nares) bagian anterior. Sekitar 25-30% manusia membawa *Staphylococcus aureus* di dalam rongga hidung dan kulitnya (Soedarto, 2015).

3. Morfologi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus bersifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46° C dan pada pH 4,2-9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen lipochrom yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan (Dewi, 2013).

4. Patogenesis

Staphylococcus aureus menyebabkan penyakit pada manusia melalui invasi jaringan dan karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi dimulai dari tempat koloni patogen pada tubuh, lalu ditularkan melalui tangan ke tempat bakteri dapat memasuki tubuh, misalnya di luka yang ada pada kulit, tempat insisi

pembedahan, tempat masuk kateter vaskuler, atau tempat lain yang lemah pertahanannya misalnya luka lecet kecil lainnya.

Pada infeksi kulit *Staphylococcus aureus* akan terbentuk abses, maka organisme akan menyebar secara hematogen. Adanya enzim proteolitik *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan pneumonia, infeksi tulang dan sendi, maupun endokarditis. Pada hospes yang mengalami gangguan sistem imun (*immunocompromised*), misalnya penderita kanker yang mengalami neutropeni, terapi intravena yang dilakukan dapat menyebabkan komplikasi berat misalnya sepsis yang fatal akibat bakteremi *Staphylococcus aureus*. pada penderita dengan fibrosis kistik, adanya *Staphylococcus aureus* yang menetap dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap antibiotik (Yuwono, 2011).

F. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat atau senyawa yang dapat menekan atau membunuh pertumbuhan bakteri. Senyawa atau zat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia. Harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin maksudnya yaitu senyawa tersebut harus bersifat sangat toksik terhadap bakteri tetapi tidak toksik untuk hospes. Berdasarkan sifatnya ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai zat bakteristatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal sebagai zat bakterisid (Ganiswara, 2007).

G. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Pengujiannya dilakukan dengan metode difusi.

Metode difusi ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (disk) kertas, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran atau silinder dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu dalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitaraan cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor antar obat, organisme dan faktor fisika kimia (Jawetz *et al.*, 2005).

H. Antibiotik

MRSA merupakan strain dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antimikroba semua turunan penicillin dan methicillin serta antimikroba spectrum luas β -lactamase. Bakteri MRSA juga dapat menyebar di tempat-tempat umum seperti gym, loker, pasar dan perabot rumah tangga. MRSA dapat dideteksi dengan melakukan uji kepekaan terhadap antibiotik. Untuk mengetahui uji kepekaan tersebut pernah dilakukan oleh salah satu peneliti yang melakukan uji kepekaan antibiotik tersebut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* hasil yang didapatkan yaitu pola resistensi kuman Gram Positif terhadap beberapa antibiotika. Sebanyak delapan antibiotika diujikan pada kuman Gram positif *Staphylococcus aureus*, terdapat 3 antibiotika yang memiliki tingkat kepekaan

diatas 50% yaitu vankomisin (100%), siprofloksasin (75%), gentamisin (68,75%), diikuti eritromisin, imipenem dan sefotaksim (50%) (Chudlori *et al*, 2012). Hasil dari uji kepekaan tersebut dapat dilihat paling tinggi terdapat pada antibiotik vankomisin (100%), siprofloksasin (75%), gentamisin (68,75%). Penelitian ingin melakukan pengujian aktivitas antibakteri untuk mengetahui efektifitas serbuk ekstrak etanolik Daun Sirsak dan Daun Binahong sebagai antimikroba menggunakan antibiotik gentamicin Resistant terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Chudlori *et al.*, 2012).

I. Landasan Teori

Sirsak merupakan tumbuhan yang memiliki banyak manfaat dan khasiatnya. Penelitian ini menggunakan Daun Sirsak sebagai bahan ekstraksi yang akan diujikan terhadap bakteri *Stapylococcus aureus*. Di Indonesia, sirsak tumbuh dengan baik pada daerah ketinggian kurang dari 1000 m dpl. Nama Sirsak itu sendiri berasal dari bahasa Belanda Zuurzak yang kurang lebih artinya kantung yang asam. (Haryanto, 2012). Nama latin dari daun sirsak yaitu (*Annona muricata* L.) yang termasuk kedalam Familia (Annonaceae). Macam-macam khasiat dari Daun Sirsak itu sendiri yaitu memiliki kandungan senyawa astogenin yang berfungsi sebagai antitumor. Daun sirsak juga didapati kandungan bahan kimia yang berfungsi untuk pengobatan adalah kandungan flavonoid.

Flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi organisme, seperti bakteri atau virus (Tuna *et al.*, 2015). Kemudian terdapat kandungan Tanin yang merupakan golongan bahan alam lain

yang memberikan rasa kesat dan pahit dalam tanaman dan makanan. Golongan ini terdiri dari senyawa polifenol larut-air, sesuai dengan namanya tanin dapat terhidrolisis oleh basa untuk membentuk asam sederhana dan gula (Heinrich *et al.*, 2010). Saponin Menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat meningkatkan kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar merupakan mekanisme kerja sebagai antibakteri dari saponin (Nuria *et al.*, 2009). Peneliti juga memilih Daun Binahong sebagai sampel uji ekstraksi etanolik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Binahong adalah tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk mengobati banyak penyakit diantaranya pengobatan luka bakar, penyakit tifus, radang usus, sariawan, keputihan, pembengkakan hati dan pembengkakan jantung (Manoi, 2009).

Nama latin Daun Binahong yaitu (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) termasuk Familia (Basellaceae), Daun Binahong memiliki khasiat dan manfaat antara lain untuk meningkatkan daya tubuh, memperkuat daya tahan sel terhadap infeksi sekaligus memperbaiki sel yang rusak, melancarkan dan menormalkan peredaran darah serta tekanan darah, mencegah stroke, mengatasi diabetes serta mengobati penyakit maag (Hariana, 2013), Selain itu daun binahong juga memiliki kandungan kimia yang bermanfaat sebagai pengobatan antara lain Flavonoid, asam oleanolik, alkoholoid, protein, asam askorbat dan saponin. Berbagai kandungan kimia tersebut menyebabkan daun binahong dapat bersifat sebagai antibakteri, antivirus, antiinflamasi, analgesik dan antioksidan (Hariana, 2013).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri dari serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong yang akan diekstraksi menggunakan pelarut etanol. Estraksi adalah penyarian zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut berada dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebannya sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Akhyar, 2010). Kemudian dari uji ekstraksi etanolik yang didapatkan akan dilanjutkan dengan pengujian antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Antibiotik yang digunakan oleh peneliti yaitu antibiotik DMSO sebagai antibiotik negatif dan antibiotik Gentamicin sebagai antibiotik positifnya.

Antibiotik Gentamicin merupakan salah satu antibiotik yang memiliki kepekaan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki pola kepekaan sebesar 68% (Chudlori *et al.*, 2012). Peneliti ingin melakukan pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak kombinasi dua daun yang berbeda untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tersebut yang dapat dilihat dari besar zona hambat yang didapatkan setelah ditanam pada media.

Staphylococcus aureus bersifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46° C dan pada pH 4,2-9,3 Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen

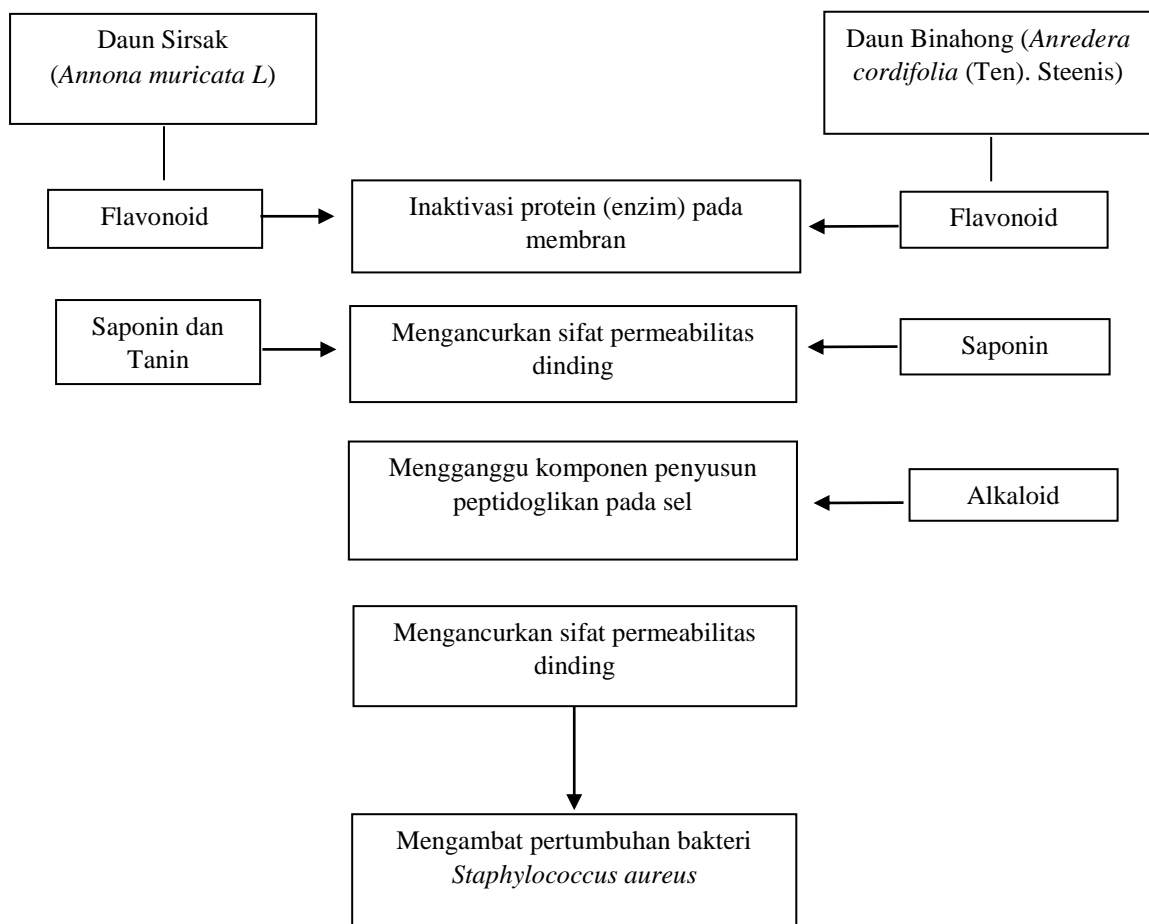
lipochrom yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan (Dewi, 2013).

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri yaitu Metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (disk) kertas, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran atau silinder dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu dalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitaraan cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor antar obat, organisme dan faktor fisika kimia (Jawetz *et al.*, 2005).

J. Kerangka Pikir Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang disajikan dapat disusun kerangka berpikir yang disajikan dalam bagan berikut ini:

Berdasarkan latar belakang yang disajikan dapat disusun kerangka berpikir yang disajikan dalam bagan berikut ini:



Gambar 4. Kerangka pikir penelitian.

K. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanolik daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pus pasien dan kultur laboratorium ditentukan dari hasil penelitian.
2. Efek sinergisme dari hasil ekstrak etanolik Daun Sirsak dan Daun Binahong ditentukan dari hasil penelitian.
3. Sensitivitas pada sampel Kultur Laboratorium dan Isolate Pus Pasien ekstrak etanolik daun sirsak (*Annona muricata* L) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditentukan dari hasil penelitian.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian analitik eksperiment di Laboratorium secara Mikrobiologi.

B. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari - Juni 2018. Tempat penelitian yang digunakan untuk penelitian yaitu dibagian Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis) yang berasal dari Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirsak dan daun binahong yang diambil dengan memilih daun yang berwarna hijau segar, kemudian daun yang diperoleh dikeringkan dan dibuat serbuk. Sampel bakteri yang digunakan yaitu sampel Kultur Laboratorium dan sampel Pus Pasien RSUD Dr.Moewardi.

D. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel tergantung.

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis).

b. Variabel Tergantung

Variabel tergantung adalah titik pusat dari persoalan yang merupakan kriteria dari penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat yang terbentuk dari bakteri *Staphylococcus aureus* dari Kultur Laboratorium dan sampel Isolate Pus Pasien RSUD Dr.Moewardi.

3. Defenisi Operasional Variabel Utama

- a. Daun Sirsak dan Daun Binahong adalah daun yang berwarna hijau segar dan diambil didaerah Karanganyar, Jawa Tengah..
- b. Daun Sirsak dan Daun Binahong adalah daun yang diambil kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, setelah itu dikeringkan dengan menggunakan oven hingga kering, kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan mesh no 40.

- c. Ekstrak etanolik Daun Sirsak dan Daun Binahong menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil maserasi kemudian dipekatkan dengan *Ratory evaporator* sampai bebas etanol.
- d. Metode difusi adalah uji aktivitas antibakteri dengan mengukur luas zona inhibisi dengan menggunakan kontrol positif antibiotik Gentamicin dan kontrol negatif DMSO 2%.

E. Bahan dan Alat

1. Bahan Penelitian

a. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

b. Bakteri uji

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kultur Laboratorium bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta dan Isolate sampel Pus Pasien dari RSUD Dr Moewardi.

c. Media

Media yang digunakan adalah medium *Muller Hilton Agar* (MHA), medium *Mannitol Salt Agar* (MSA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI).

2. Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah: oven, nampan, ayakan, neraca analitik, cawan petri steril, kapas, lidi steril, inkas, jarum ose, objek *glass*, mikroskop, inkubator, *autoclave*, botol sampel steril, tabung reaksi, *rotary evaporator*, pipet ukur, api spiritus, kertas saring, mesin penggiling, mikropipet, *yellow tip*, panci, mistar, kain, becker glass, kompor.

F. Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah determinasi tanaman yang digunakan dalam penelitian yaitu daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis). Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui keaslian pada daun tersebut, determinasi dilakukan dikepastakaan dan dibuktikan di Laboratorium Mikrobiologi di Universitas Setia Budi.

2. Pembuatan Serbuk

Daun sirsak dan daun binahong dicuci bersih supaya terhindar dari kotoran dan debu kemudian dikeringkan dan dihaluskan, diayak menggunakan ukuran mesh 40.

3. Penentuan Nilai Kadar Air Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong

Penentuan kadar air Daun Binahong dan Daun Sirsak masing-masing daun ditimbang bahannya sebanyak 50 gram dan dimasukkan dalam labu alas bulat kemudian ditambahkan xylen 100 ml atau sampai semua bahan terendam. Pasang

alat destilasi *Bidwell sterling* dan dipanaskan dengan api kecil, pemanasan dihentikan apabila sudah tidak ada air yang menetes lagi pada tabung *receiver* kemudian baca volume air yang telah terdestilasi pada skala *receiver*.

4. Pembuatan Ekstrak Etanolik Metode Maserasi

Pembuatan ekstrak etanolik dilakukan dengan metode maserasi. Masing-masing serbuk dimasukkan ke dalam botol maserasi kemudian ditambahkan etanol 96%. Botol ditutup kemudian dikocok dan didiamkan selama 4 hari. Maserat yang didapatkan disaring dengan menggunakan kain flannel dan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan *Rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak kental.

5. Identifikasi Senyawa dari Ekstrak Etanolik Daun Sirsak dan Daun

Binahong

a. Pembuatan Senyawa Flavonoid

2 ml ekstrak ditambahkan dengan 2 ml larutan etanol 96% kemudian ditambahkan larutan HCL 2N sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi. Diamkan selama 1 menit lalu tambahkan 2 ml HCL pekat. Hasil positif bila terbentuk larutan warna merah jingga.

b. Pembuatan Senyawa Saponin

2 ml ekstrak ditambahkan dengan 10 ml aquadest dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu dipanasi dibawah api spirtus. Kocok kuat selama 10 detik kemudian ditambahkan beberapa tetes HCL 2N. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk busa stabil.

c. Pembuatan Senyawa Tanin

2 ml ekstrak ditambahkan dengan 2 ml aquadest kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil dinyatakan positif bila terbentuk larutan warna biru kehitaman.

d. Pembuatan Senyawa Alkaloid

2 ml ekstrak ditambahkan beberapa tetes larutan HCL 2N kemudian dipanaskan dengan api spiritus. Tambahkan beberapa tetes reagen dragendrof. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk endapan coklat.

6. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Sirsak dan Daun Binahong

Preparasi ekstrak maserasi daun sirsak dan daun binahong dibuat dalam konsentrasi 100% dilakukan dengan cara dilarutkan dengan DMSO 2%.

7. Pembuatan Perbandingan Serbuk Daun

Preparasi ekstrak maserasi daun binahong dan daun sirsak dibuat dengan perbandingan 1:10. Jadi 1 adalah bagian serbuknya dan 10 adalah etanolnya. Dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong		
Perbandingan	Serbuk daun sirsak (gram)	Serbuk daun binahong (gram)
0:1	100	0
1:0	0	100
1:1	50	50
1:2	33	67
2:1	67	33

8. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum dan sesudah semua peralatan digunakan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri. Sterilisasi dilakukan yaitu dengan cara

membungkus semua peralatan yang digunakan menggunakan kertas kemudian disimpan di dalam oven pada suhu 70°C selama ± 2 jam.

9. Pembuatan Media

a. Pembuatan Medium *Brain Heart Infusion* (BHI)

Ditimbang medium *Brain Heart Infusion* (BHI) dibuat dengan cara menimbang sebanyak 1,85 gram, kemudian ditambahkan Aquadest sebanyak 10 ml, homogenkan dan dipanaskan. Dimasukkan kedalam beker glass kemudian dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 ml dan disumbat dengan kapas lalu disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Dibungkus dengan kertas dan di simpan didalam kulkas.

b. Pembuatan Medium *Mueller Hilton Agar* (MHA)

Ditimbang MHA sebanyak 3,4 gram, kemudian masukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 ml, kemudian panaskan sampai mendidih, angkat dan tutup erlenmeyer dengan kapas kemudian lapisi dengan kertas perkamen dan ikan dengan benang, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Pembuatan Medium *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Ditimbang VJA sebanyak 30,51 gram dalam air dimurnikan / suling. Panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media secara sempurna. Sterilkan dengan autoklaf pada tekanan 15 lbs (121°C) selama 15 menit. Dinginkan sampai $45-50^{\circ}\text{C}$ dan tambahkan 10 ml larutan kalium Tellurite 1% steril (FD052). Campur lembut dan tuangkan ke piring Petri steril.

10. Identifikasi bakteri dari Sampel Pus Pasien dan Kultur Laboratorium

- a. Sampel diinokulasi secara goresan menggunakan kapas lidi steril dan jarum ose steril pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA). Media diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.
- b. Pertumbuhan koloni diamati pada medium *mueller hilton agar* (MHA), hasil positif jika terdapat pigmen *pyocyanin* (hijau-biru) dan pigmen *pyoverdin* (hijau-kuning). Koloni yang tumbuh dilanjutkan ke medium cair *Brain Heart Infusion* (BHI) dan uji biokimia yaitu pada uji katalase dan uji koagulase. Uji koagulase menggunakan sampel yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C. Hasilnya positif jika terjadi pembentukan bekuan selama 1-4 jam. (Jawetz *et al.*, 2012). Uji katalase menggunakan suspensi bakteri MRSA yang ditanam pada medium nutrient cair ditambah 2 tetes hidrogen peroksida 3%. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂ hasil dinyatakan positif bila terlihat gelembung udara disekitar koloni, hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al.*, 2012).
- c. Hasil pada pedium *Brain Heart Infusion* (BHI) ditandai dengan terjadinya kekeruhan, maka dilanjutkan dengan melakukan pengecatan Gram.
- d. Pengecatan Gram: koloni bakteri yang telah dibuat preparat di tetesi dengan Gram A (Kristal violet) dengan waktu 60 detik, Gram B (Lugol Iodine) 60 detik, preparat dicuci dengan Gram C (Alkohol) 15-30 detik, warnai

kembali dengan Gram D (Safranin) 60 detik, kemudian bilas dan keringkan. Hasil dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Hasil pengecatan Gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu bersifat Gram positif yang berwarna ungu dan berbentuk bulat.

- e. Pembacaan hasil pada uji biokimia uji koagulase positif bila terjadi pembentukan bekuan. Pada uji katalase hasil positif bila terlihat gelembung udara disekitar kolon

11. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Kultur bakteri *Staphylococcus aureus* ditanam pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) kemudia dibandingkan dengan standart Mc. Farland dengan adanya kekeruhan. Suspensi bakteri di swab merata pada permukaan media Kultur *Mueller Hilton Agar* (MHA) kemudian didiamkan selama 5 menit. Media tersebut diletakkan disk yang sudah direndam dengan konsentrasi ekstrak 80% selama 1 malam lalu dibuat 7 bagian perbandingan 0:1,1:0,1:1,1:2,2:1, kontrol negatif dan kontrol positif. kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Perlakuan tersebut dilakukan 3 kali pengulangan.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* kultur murni dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta dan isolat pus pasien dari RSUD

Dr. Moewardi secara difusi teknik cakram disk dianalisis dengan menggunakan uji statistik.

1. Uji Normalitas

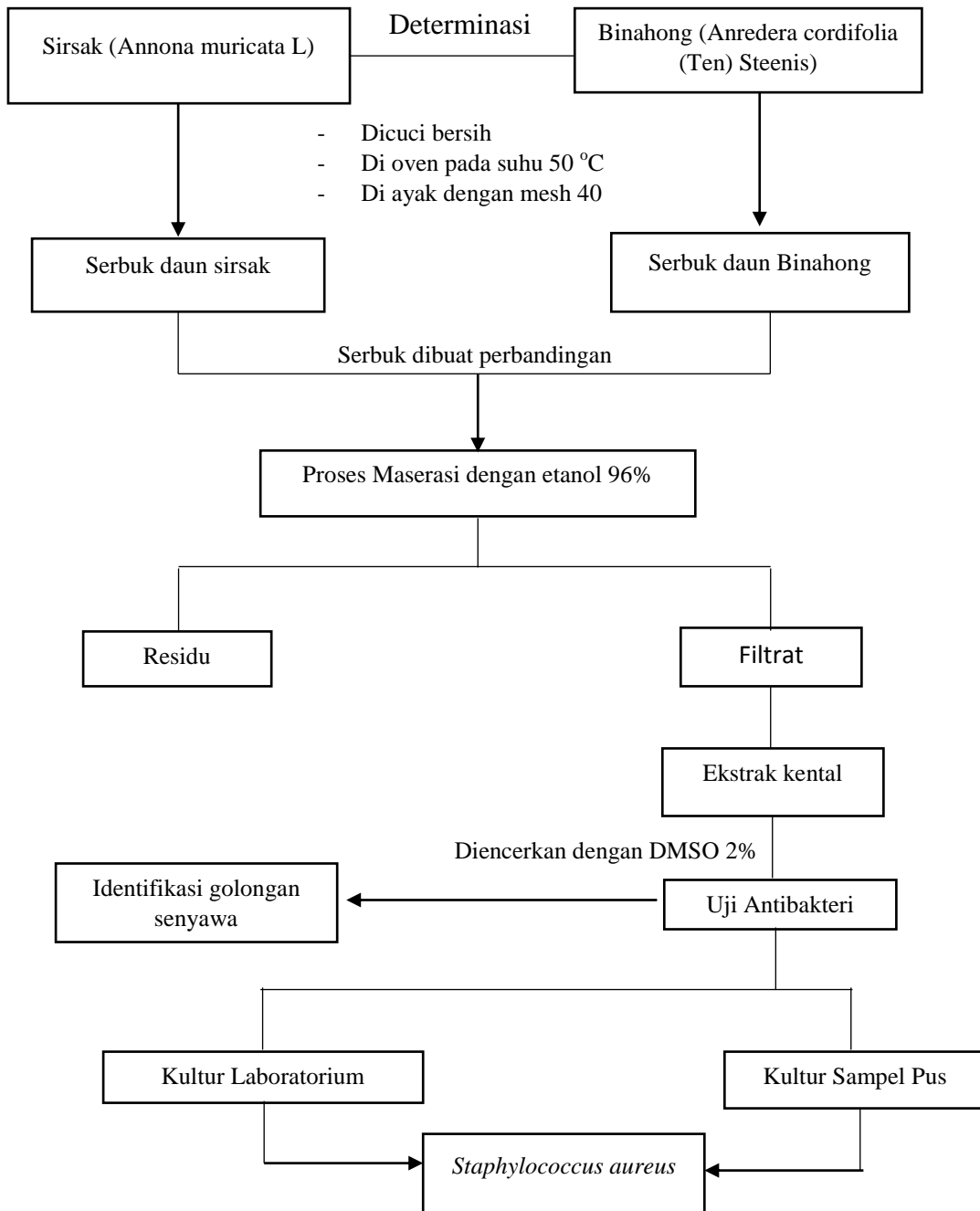
Uji normalitas adalah satu uji asumsi klasik yang bertujuan untuk membuktikan bahwa data yang akan diuji berdistribusi normal atau terjadi penyimpangan distribusi. Apabila nilai $p > 0,05$ maka asumsi normalitas terpenuhi atau diterima sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka asumsi normalitas tidak terpenuhi atau ditolak. Dalam penelitian ini uji normalitas dilakukan dengan uji *kolmogorov-Sminorv Test* (Ghozali, 2011).

2. Analisis of Varians (One Way ANOVA)

Anova untuk menguji kemaknaan perbedaan beberapa sampel lebih dari dua kelompok dilakukan uji analisis variasi. Anava dapat digunakan untuk:

- a. Menguji apakah rata-rata lebih dari dua sampel yang berbeda secara signifikan atau tidak.
- b. Menguji apakah dua buah sampel mempunyai varians populasi yang sama atau tidak.

H. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 5. Skema Penelitian.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman Sirsak

Determinasi tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan diteliti sehingga menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan kemungkinan tercampurnya dengan tanaman yang lain. Hasil determinasi menunjukkan bahwa ciri-ciri morfologi tanaman sirsak yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan literatur. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman sirsak, kemudian determinasi pada Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) bertujuan untuk menetapkan kebenaran daun tanaman binahong yang akan digunakan dalam penelitian sebagai antibakteri. Berdasarkan hasil determinasi dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Hasil determinasi kedua daun dilakukan di Laboratorium Fakultas ilmu kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil Tanaman dapat dilihat pada lampiran 1 dan lampiran 2.

B. Pengambilan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Sirsak dan Daun Binahong yang diperoleh dari karanganyar Jawa Tengah pada bulan Januari-februari 2018. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Sirsak dan Daun Binahong yang masih segar berwarna hijau. Daun yang diambil

sesuai dengan literatur yang ada yaitu daun yang dipilih tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, ini dikarenakan umur daun mempengaruhi kandungan senyawa metabolit yang terkandung pada daun. Pengambilan sampel dilakukan pada sore, karena hasil proses fotosintesis sudah tersimpan sehingga senyawa metabolit yang terkandung lebih banyak (Syafira, 2016).

C. Pembuatan Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong

Pembuatan serbuk daun sirsak dan daun binahong dilakukan dengan cara kedua daun dicuci bersih agar terbebas dari kotoran dan debu, kemudian dikeringkan dalam oven 50°C, setelah didapatkan hasil simplisia kemudian digiling daunnya hingga menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan mesh nomor 40. Pemakaian ayakan no 40 bertujuan agar mendapatkan serbuk daun yang lebih halus secara optimal. Proses ini dinamakan pemilihan simplisia dimana daun yang sudah dioven sampai kering lalu dilakukan penggilingan agar daun berubah menjadi serbuk sesuai dengan literatur yang ada bahwa proses pemilihan simplisia digunakan untuk memisahkan simplisia dari benda asing yang berbahaya atau yang dapat merugikan (Isdanto, 2011).

D. Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong

Penentuan kadar air Daun Sirsak dan Daun Binahong masing-masing daun ditimbang bahannya sebanyak 50 gram dan dimasukkan dalam labu alas bulat kemudian ditambahkan xylen 100 ml atau sampai semua bahan terendam. Pasang alat destilasi *Bidwell sterling* dan dipanaskan dengan api kecil, pemanasan dihentikan apabila sudah tidak ada air yang menetes lagi pada tabung *receiver*

kemudian baca volume air yang telah terdestilasi pada skala *receiver*. Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun sirsak dan daun binahong.

No.	Berat Bahan (g)	Skala (ml)	Kadar Air (%)
1.	20,0129	2	9,99
2.	20,0110	2	9,99

Pada tabel 2 dapat dilihat hasil yang didapatkan dari uji penetapan kadar air pada Daun Sirsak didapatkan hasil 2 ml dan pada Daun Binahong juga didapatkan hasil 2 ml. Hasil yang didapatkan kemudian dilakukan perhitungan kadar airnya secara thermovolumetri dimana berat bahan dibagi dengan skala yang didapatkan maka hasilnya dijadikan persen.

E. Hasil Pembuatan Ekstrak Maserasi Daun Sirsak dan Daun Binahong

Maserasi merupakan suatu penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong masing-masing ditimbang sebanyak 250 gram kemudian direndam dalam pelarut etanol 96% dimasukkan kedalam botol coklat dengan tujuan mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna. Pelarut dimasukkan kedalam botol coklat yang sudah tercampur dengan serbuk daun sirsak dan daun binaong harus segera ditutup dikarenakan sifat pelarut etanol yang mudah menguap. Serbuk direndam dengan pelarut etanol 96% selama 4 hari dengan cara sesekali digojok dan akan didapatkan presentase rata-rata bobot ekstrak maserasi daun sirsak dan daun binahong dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Presentase bobot ekstrak maserasi daun sirsak dan daun binahong.

Perbandingan	Serbuk Daun Sirsak (g)	Serbuk Daun Binahong (g)	Ekstrak Yang Didapat (g)	Rendemen (%)
0 : 1	100	0	16,25	16,25
1 : 0	0	100	14,17	14,17
1 : 1	50	50	12,48	12,48
1 : 2	33	67	8,65	8,65
2 : 1	67	33	10,2	10,2

Ekstrak yang didapat dikurangi dengan bobot gelas kosong pada awal hasil yang didapat 0:1 ($145,2398 - 128,9931 = 16,25$) dan presentase rendemen ekstrak Daun Sirsak dan Daun Binahong menggunakan perhitungan ekstrak yang didapat dibagi 100 kemudian dikalikan maka akan mendapatkan hasil rendemen dalam bentuk persen, pada perbandingan 0:1 diperoleh sebanyak 16,25%, 1:0 diperoleh sebanyak 14,17%, 1:1 diperoleh sebanyak 12,48, 1:2 diperoleh sebanyak 8,64 dan 2:1 diperoleh sebanyak 10,2. Hasil perhitungan dapat dilihat dilampiran.

F. Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Sirsak dan Daun Binahong

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara esterifikasi yang bertujuan untuk memastikan bahwa dalam ekstrak sudah tidak mengandung pelarut dimana dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol 96% . ekstrak uji harus bebas dari pelarut etanol karena etanol memiliki aktivitas membunuh bakteri sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian. Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun sirsak dan daun binahong dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun sirsak dan daun binahong.

Uji Esterifikasi	Pustaka	Hasil uji
Ekstrak + asam asetat + asam sulfat kemudian dipanaskan	Tidak tercium bau ester menunjukkan sudah tidak mengandung etanol (Praeparandi 2006)	Tidak tercium bau ester

Esterifikasi merupakan reaksi pembentukan ester dengan cara mereaksikan langsung asam karboksilat dengan alkhohol, reaksi ini berlangsung

lama namun dengan penambahan katalis asam akan mempercepat pembentukan senyawa ester. Prinsip reaksi esterifikasi adalah terjadinya transfer proton dari katalis asam ke asam oksigen karbonil dari asam karboksilat, atom karbonil akan diserang oleh asam oksigen dari alkohol terjadi protonisasi pada gugus hidroksil menghasilkan kompleks teraktivasi diikuti dengan pelepasan molekul air. Produk esterifikasi disebut ester, dimana ester mempunyai aroma yang khas (Praeparandi, 2009). Berdasarkan tabel 4 dapat dilihat bahwa setelah penambahan asam sulfat dan asam asetat pada ekstrak yang kemudian dipanaskan tidak tercium bau ester. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dan daun binahong yang digunakan pada penelitian ini positif bebas etanol maka hasil dari uji bebas etanol yang dilakukan peneliti sesuai dengan literatur yang ada.

G. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia.

Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan pada serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun binahong. Identifikasi senyawa dilakukan untuk memastikan adanya kandungan-kandungan apa saja yang terdapat pada daun sirsak maupun daun binahong sehingga dapat mengetahui kandungan senyawa tersebut memang benar atau tidak memiliki fungsi antibakteri sesuai dengan literatur yang ada. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 5 dan tabel 6.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk daun sirsak

Senyawa	Pengamatan	Pustaka	Interpretasi Hasil	
			Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	2ml ekstrak + 2ml etanol 96% + 2ml HCL2N. Didiamkan selama 1 menit + 2ml HCL pkt. Terbentuk larutan warna merah jingga.	Reaksi positif jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga (Sari <i>et al.</i> , 2010)	(+)	(+)
Saponin	2ml ekstrak + 10ml Aq panasi dalam tabung reaksi. Kocok kuat selama 10 detik + beberapa tetes HCL 2N. Terbentuk busa stabil.	Hasil positif bila terbentuk busa setinggi 3cm dalam tabung reaksi. Bila busa stabil maka dipastikan terdapat saponin (Sari <i>et al.</i> , 2010)	(+)	(+)
Tanin	2ml ekstrak + 2ml air + beberapa tetes FeCl ₃ 1%. Terbentuk warna biru kehitaman.	Reaksi positif jika terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman (Sari <i>et al.</i> , 2010)	(+)	(+)

Keterangan : (+) ada senyawa, (-) tidak ada senyawa

Pada identifikasi senyawa kimia didapatkan reaksi positif pada kandungan senyawa-senyawa yang terdapat didalam daun sirsak. Pada senyawa flavonoid terdapat reaksi positif dengan terbentuknya warna merah jingga, pada senyawa saponin didapatkan hasil positif terbentuknya busa setinggi 2,5cm yang stabil setelah didiamkan selama 30 menit, pada senyawa tanin didapatkan hasil positif dengan terbentuknya warna biru kehitaman.

Tabel 6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk daun binahong.

Senyawa	pengamatan	Pustaka	hasil percobaan	keterangan
Saponin	2ml ekstrak + 10ml Aq panasi dalam tabung reaksi. Kocok kuat selama 10 detik + beberapa tetes HCL 2N. Terbentuk busa stabil	Terdapat busa yang mantap setinggi 1-5 cm + HCl, busa tidak hilang selama 30 menit (wardhani <i>et al.</i> , 2012)	Terbentuk busa stabil	+
Flavonoid	2ml ekstrak + 2ml etanol 96% + 2ml HCL2N. Didiamkan selama 1 menit + 2ml HCL pkt. Terbentuk larutan warna merah jingga	Reaksi positif bila timbul warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (wardhani <i>et al.</i> , 2012)	Merah jingga	+
Alkaloid	2ml ekstrak + sedikit larutan HCL 2N lalu dipanaskan + reagen dragendrof. Terbentuk endapan coklat.	Kekeruhan atau endapan warna coklat (wardhani <i>et al.</i> , 2012)	Endapan warna coklat	+

Pada tabel 6 dilakukan identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk daun binahong didapatkan hasil dengan reaksi positif yang artinya terdapat kandungan senyawa tersebut didalam daun binahong. Hasil yang didapatkan pada senyawa saponin terjadi reaksi positif dengan terbentuknya busa yang tidak hilang selama 30 menit didiamkan, kemudian uji flavonoid didapatkan hasil positif karna terbentuknya warna merah jingga dan yang terakhir pada senyawa alkaloid mendapatkan hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna coklat. Pengujian senyawa terhadap daun binahong dapat dinyatakan bahwa memang benar adanya kandungan senyawa saponin, flavonoid dan juga alkaloid di dalam Daun Binahong.

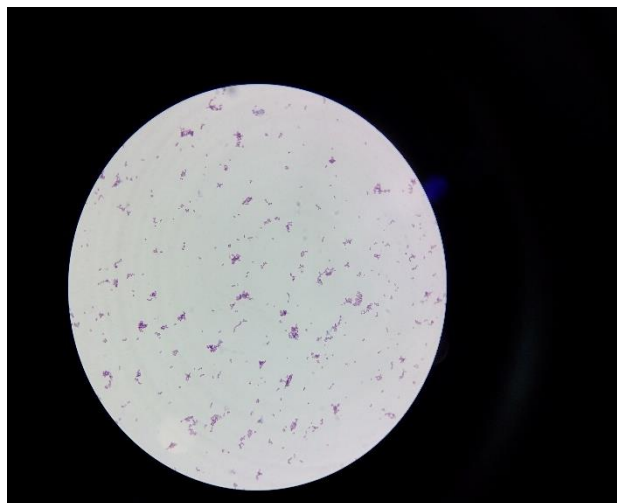
H. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan secara mikroskopis, makroskopis, uji biokimia dan uji sensitivitas terhadap beberapa antibiotik.

- a. Identifikasi secara mikroskopis dilakukan pada media BHI yang terdapat bakteri *Staphylococcus aureus* diolesi menggunakan jarum ose diatas objek glass yang telah dibersihkan dengan alkohol lalu dilakukan fiksasi. Identifikasi dilakukan dengan metode pewarnaan gram A (cat kristal violet), gram B (lugol iodin), gram C (peluntur), dan gram D (cat safranin) kemudian diamati dibawah mikroskop sampai dibawah perbesaran 100 kali. Hasil identifikasi bakteri secara mikroskopis dapat diliat pada Gambar 4 dan 5.



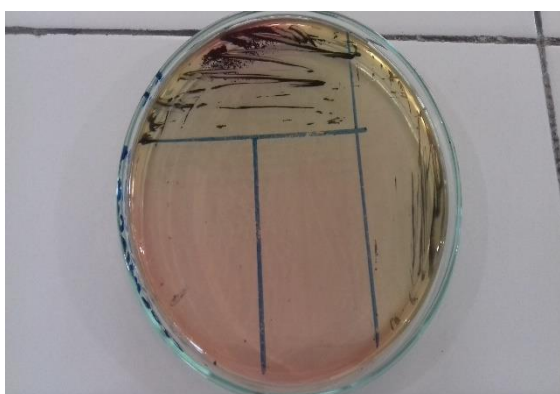
Gambar 4. Mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* dari Isolate Pus



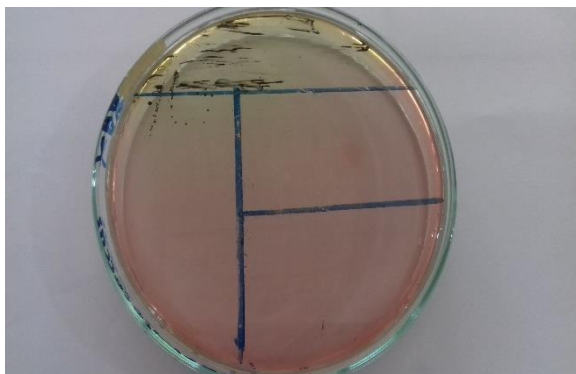
Gambar 5. Mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* dari Laboratorium

Berdasarkan Gambar 5 dan 6 dapat diketahui bahwa bakteri uji berbentuk bulat, bergerombol dan berwarna ungu sehingga dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif. Hasil mikroskopis sesuai dengan literatur yang ada bahwa *Staphylococcus aureus* adalah bakteri berbentuk kokus berukuran garis tengah sekitar 1 μm yang pada pewarnaan bersifat Gram positif, anaerob fakultatif, tidak aktif bergerak (nonmotil), tidak membentuk spora (Soedarto, 2015).

- b. Identifikasi secara makroskopis pada bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolat pus pasien dan kultur laboratorium menggunakan media VJA.



Gambar 6. Koloni bakteri *staphylococcus aureus* dari isolat pus pasien.



Gambar 7. Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium.

Berdasarkan Gambar 7 dan 8 menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditumbuhkan pada media selektive VJA memiliki ciri-ciri koloni berbentuk bulat, berwarna hitam, permukaan cembung dengan tepi halus dengan pinggiran berwarna kuning. Hasil uji dimedia VJA pada koloni didapatkan warna hitam dikarenakan bakteri dapat mereduksi kalium tellurit dan warna kuning yang ada dipinggiran media didapatkan karena bakteri dapat memfermentasi mannitol. Fermentasi manitol oleh *Staphylococcus aureus* menghasilkan produk sampingan bersifat asam yang menurunkan PH medium yang menyebabkan indikator PH berubah menjadi warna kuning (Soedarto, 2015).

- c. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara biokimia dilakukan dengan 2 cara katalase dan koagulase. Uji katalase dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan enzim katalase yang terdapat pada bakteri dan uji koagulase dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan enzim koagulase yang terdapat pada bakteri.

1) Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan uji Katalase



Gambar 8. Uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus* dari Pus pasien



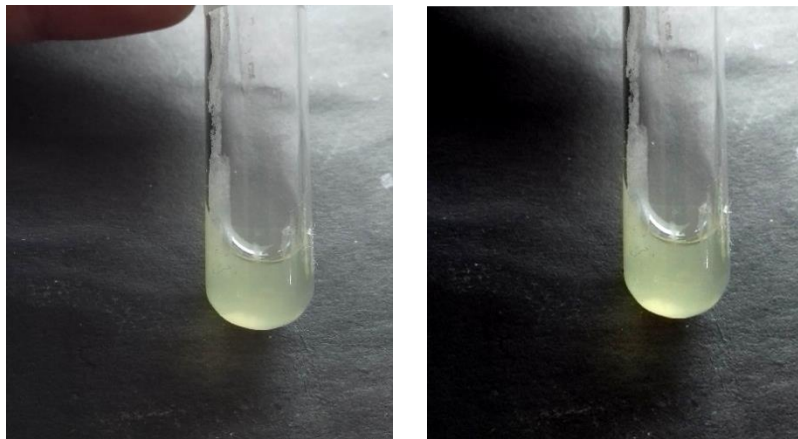
Gambar 9. Uji katalase dari bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur Laboratorium.

Berdasarkan Gambar 9 dan 10 hasil yang didapatkan dari uji katalase menunjukkan hasil positif yaitu terdapat gelembung gas pada pengujian bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari pus pasien dan kultur laboratorium. Berdasarkan hasil uji katalase, bakteri uji membentuk gelembung gas. MRSA menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Uji positif katalase digunakan untuk mendeteksi adanya enzim sitokrom peroksida yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. (Jawezt *et al.*, 2012).

2) Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan uji koagulase.

Koloni pada media VJA diinokulasikan kedalam media BHI dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada tabung steril dimasukkan 1 ml larutan plasma citrat dan ditambahkan 1 ml inokulum bakteri selanjutnya

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Maka hasil positif menunjukkan adanya koagulasi.



Gambar 10a. Uji Koagulase pus pasien dan 11b. kultur laboratorium

Pada gambar 11a dan 11b menunjukkan hasil positif bakteri *Staphylococcus aureus* pada sampel yang berasal dari pus pasien dan kultur laboratorium. Hasil uji koagulase menunjukkan pada bakteri uji terjadi gumpalan . MRSA koagulase positif dianggap patogenik bagi manusia, karena MRSA memiliki protein menyerupai enzim yang dapat membekukan plasma beroksalat atau bersitrat (Jawezt *et al.*, 2012).

I. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

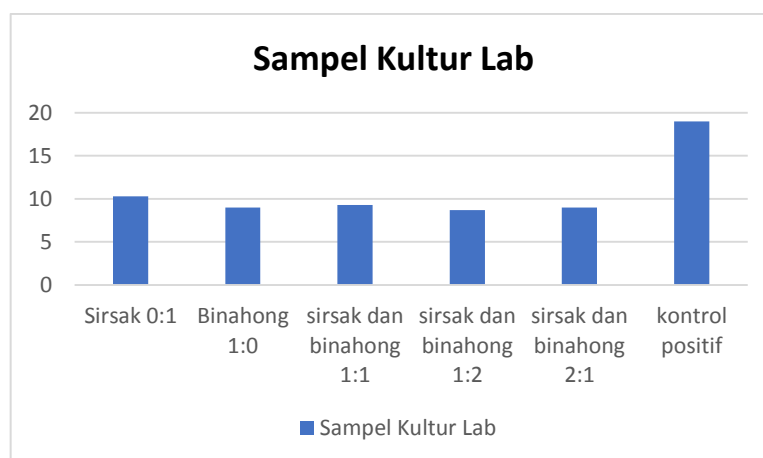
Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik campuran daun sirsak dan daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolate pus pasien menggunakan metode difusi. Pengujian yang dilakukan dengan menggunakan lima macam ekstrak dengan masing-masing konsentrasi 80%. Kontrol positif menggunakan Gentamicin dan kontrol negatif menggunakan DMSO 2%, lalu diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diamati

ada atau tidaknya zona hambat. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Tabel 7. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun sirsak dan daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur Laboratorium.

No	Sampel	Diamtere zona hambat (mm)			Rata-rata
		R1	R2	R3	
1	Kontrol Negative (DMSO 2%)	0	0	0	0
2	0:1	11	10	10	10.3
3	1:0	11	8	8	9
4	1:1	10	9	9	9.3
5	1:2	9	8	9	8.7
6	2:1	9	9	9	9
7	Kontrol positif (Gentamicin)	18	22	17	19

Pada tabel diatas menunjukkan bahwa hasil pengukuran ekstrak etanolik Daun Sirsak dan Daun Binahong terhadap bakteri *Stapylococcus aureus* dari kultur laboratorium yang memiliki zona hambat paling luas yaitu ekstrak dari bagian daun sirsak dengan diameter 10,3 mm sedangkan zona hambat paling sempit yaitu campuran ekstrak dari 1 bagian daun binahong dan 2 bagian daun sirsak dengan diameter 8,7 mm. Kontrol positif rata-rata diameternya 19 mm. Perbedaan zona hambat dapat dilihat pada grafik berikut :



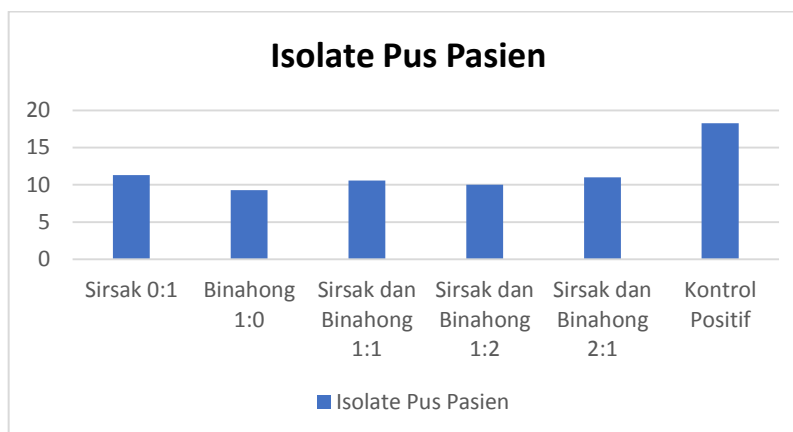
Gambar 11. Perbandingan zona hambat dari kultur Laboratorium

Pada grafik tersebut terlihat perbedaan rata-rata zona hambat yang terbentuk dari ekstrak daun. Zona hambat yang paling luas terbentuk terlihat pada grafik yaitu ekstrak daun sirsak dengan diameter 10,3 mm, sedangkan zona hambat yang paling sempit terbentuk yaitu kombinasi ekstrak S1:B2 dengan diameter 8,7 mm.

Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun sirsak dan daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolate Pus pasien.

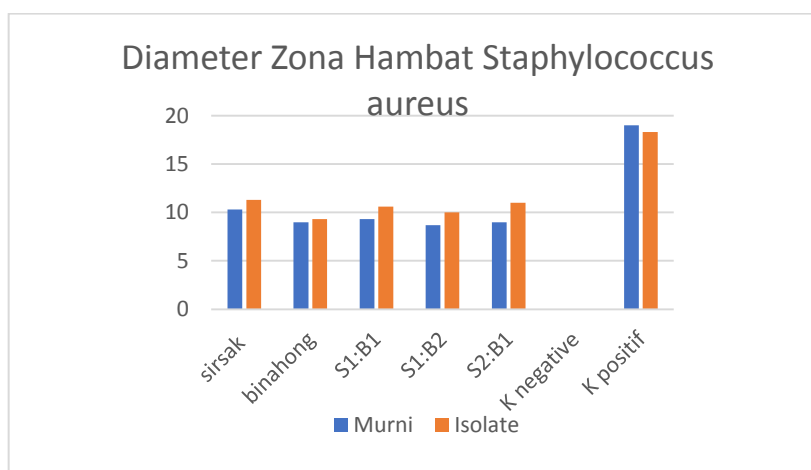
No	Sampel	Diamtere zona hambat (mm)			
		R1	R2	R3	Rata-rata
1	Kontrol negative (DMSO 2%)	0	0	0	0
2	0:1	10	11	13	11.3
3	1:0	10	9	9	9.3
4	1:1	12	9	11	10.6
5	1:2	10	10	10	10
6	2:1	10	10	13	11
7	Kontrol Positif (Gentamicin)	18	19	18	18.3

Pada tabel diatas menunjukkan bahwa hasil pengukuran ekstrak daun sirsak dan daun binahong terhadap bakteri *Stapylococcus aureus* dari kultur laboratorium yang memiliki zona hambat paling luas yaitu ekstrak dari bagian daun sirsak dengan diameter 11,3 mm sedangkan zona hambat paling sempit yaitu ekstrak dari daun binahong dengan diameter 9,3 mm. Kontrol positif rata-rata diameternya 18,3 mm. Perbedaan zona hambat dapat dilihat pada grafik berikut :



Gambar 12. Zona hambat dari Isolate pus pasien

Pada grafik tersebut terlihat perbedaan rata-rata zona hambat yang terbentuk dari ekstrak daun sirsak dan daun binahong. Zona hambat yang paling luas terbentuk terlihat pada grafik yaitu ekstrak daun sirsak dengan diameter 11,3 mm, sedangkan zona hambat yang paling sempit terbentuk yaitu dari ekstrak daun binahong dengan diameter 9,3 mm.



Gambar 13. Perbandingan Zona Hambat dari kombinasi Ekstrak daun sirsak dan daun binaong terhadap *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolate pus pasien

Pada gambar diatas menjelaskan bahwa perbandingan zona hambat kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolate pus pasien memiliki perbedaan yang signifikan.

Hasil uji normalitas dengan menggunakan model One Sample Kolmogorov – Smirnov. Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah data yang didapat berdistribusi normal atau tidak normal. Cara untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak normal yaitu dengan melakukan uji asumsi klasik apabila signifikansi $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan apabila signifikansi $p > 0,05$ maka H_0 diterima. Data berdistribusi normal dan memenuhi syarat untuk dilakukan uji selanjutnya.

Hasil dari data uji One Sample Kolmogorov – Smirnov diperoleh signifikansi pada *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium yaitu 0.119 dengan demikian $p > 0,05$ maka H_0 diterima dan data dinyatakan berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji normalitas yang sama pada sampel Isolate pus pasien dari RSUD dr. Moewardi.

Signifikansi pada *Staphylococcus aureus* dari isolate pus pasien yaitu 0.203 dengan demikian $p > 0,05$ maka H_0 diterima dan data dinyatakan berdistribusi normal. Maka dari kedua data sampel kultur laboratorium dan isolate pus pasien dapat dinyatakan berdistribusi normal dan dapat dilanjutkan uji selanjutnya adalah One Way Anova.

Hasil uji Anova digunakan untuk menguji ada atau tidaknya perbedaan zona hambat antara kelima kombinasi ekstrak etanolik daun sirsak dan daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* isolate pus pasien dan kultur laboratorium. Hasil Test of homogeneity of Varians menunjukkan bahwa nilai probabilitas Levene Statistik didapatkan nilai signifikan 0.049 dengan demikian $p > 0,05$ maka H_0 ditolak, maka kelima ekstrak memiliki varians yang berbeda. Pada tabel ANOVA menunjukkan nilai probabilitas adalah 0.366 dengan demikian $p > 0,05$ maka H_0 diterima, maka tidak terdapat perbedaan diameter zona hambat secara signifikan berdasarkan kelima kelompok ekstrak tersebut. Setelah uji One Way Anova selanjutnya dilakukan Uji Post Hoc bertujuan untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan secara signifikan pada uji One Way Anova. Uji lanjutan setelah anova untuk mengetahui kebermaknaan di antara dua kelompok atau lebih dengan Uji Post Hoc digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan diantara 2 mean dengan menggunakan model SNK (student – Newman – Keuls). Berdasarkan Homogeneous subsets dari uji Post Hoc didapatkan nilai 0.359 artinya > 0.05 maka dapat disimpulkan dari kelima kelompok ekstrak yang berada dalam 2 subset artinya terdapat 2 kelompok ekstrak yang tidak memiliki perbedaan zona hambat secara signifikan. Setelah mengetahui hasil uji dari sampel Isolate pus pasien maka selanjutnya dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan atau tidak terhadap sampel Kultur laboratorium,

Test of Homogeneity of Varians menunjukkan bahwa nilai probabilitas Levene Statistik adalah 0.004 dengan demikian $p < 0,05$ maka H_0 ditolak, maka kelima ekstrak memiliki varians yang berbeda. Pada tabel ANOVA menunjukkan

nilai probabilitas adalah 0.263 dengan demikian $p > 0,05$ maka H_0 diterima, maka tidak terdapat perbedaan diameter zona hambat secara signifikan berdasarkan kelima kelompok ekstrak tersebut. Uji lanjutan setelah anova untuk mengetahui kebermaknaan di antara dua kelompok atau lebih dengan Uji Post Hoc digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan diantara 2 mean dengan menggunakan model SNK (student – Newman – Keuls). Berdasarkan Homogeneous subsets dari uji Post Hoc didapatkan nilai 0.227 dengan demikian nilai $p > 0,05$ maka H_0 diterima, maka hasil dari uji Post Hoc pada kelima kelompok ekstrak diperoleh dalam satu subset yang artinya kelima kelompok ekstrak tidak memiliki perbedaan diameter zona hambat secara signifikan.

Penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 80% ekstrak etanolik daun sirsak ditemukan adanya senyawa flavonoid, tanin dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Flavonoid sebagai antimikroba memiliki mekanisme kerja yang dapat dibagi menjadi tiga yaitu menghambat fungsi membran sel, menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat metabolisme energi. mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah bentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cushnie *et al.*, 2005).

Tanin merupakan golongan bahan alam lain yang memberikan rasa kesat dan pahit dalam tanaman dan makanan. Golongan ini terdiri dari senyawa polifenol larut-air, sesuai dengan namanya tanin dapat terhidrolisis oleh basa untuk membentuk asam sederhana dan gula (Heinrich *et al.*, 2010).

Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat meningkatkan kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar merupakan mekanisme kerja sebagai antibakteri dari saponin (Nuria *et al.*, 2009).

Hasil uji aktivitas antibakteri dari sampel kultur laboratorium dan isolate pus pasien didapatkan sampel isolate pus yang lebih sensitif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dikarenakan sampel isolate pus pasien belum terpapar oleh antibiotik. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilaporkan oleh Levinson (2004). Yaitu Salah satu bakteri penyebab infeksi luka adalah *Staphylococcus aureus*, Sampel pus infeksi luka operasi diambil dari RSUD Dr.Moewardi. Pus adalah suatu cairan hasil proses peradangan dari sel-sel leukosit. Pus merupakan suatu campuran netrofil dan bakteri, infeksi bakteri sering menyebabkan konsentrasi netrofil lebih tinggi di dalam jaringan dan banyak dari sel ini mati (Levinson, 2004).

Hasil uji bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis yang ditanam pada media VJA didapatkan hasil dengan ciri-ciri koloni berbentuk bulat, berwarna hitam, permukaan cembung dengan tepi halus dengan pinggiran berwarna kuning. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilaporkan oleh Soedarto (2015). Yaitu Hasil uji dimedia VJA pada koloni didapatkan warna hitam dikarenakan bakteri dapat mereduksi kalium tellurit dan warna kuning yang ada dipinggiran media didapatkan karena bakteri dapat memfermentasi mannitol. Fermentasi manitol oleh *Staphylococcus aureus* menghasilkan produk sampingan bersifat asam yang menurunkan PH medium yang menyebabkan indikator PH berubah menjadi warna kuning (Soedarto, 2015).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan :

1. Ekstrak Etanolik pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis) semua memiliki aktivitas, yang paling aktif adalah sirsak 0:1 atau disebut sirsak tunggal.
2. Dari kombinasi ekstrak etanolik daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis) tidak mempunyai efek sinergisme.
3. Dari kombinasi ekstrak etanolik daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis) didapatkan sampel bakteri *Staphylococcus aureus* pus pasien lebih sensitif dari pada sampel bakteri *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium.

B. Saran

1. Diharapkan dapat dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan bagian lain dari tanaman Sirsak dan Binahong seperti pada akar, buah atau batangnya.
2. Diharapkan dapat dilakukan pengujian aktivitas antibakteri pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis) dengan metode yang sama tetapi terhadap bakteri yang berbeda.


DAFTAR PUSTAKA

- Akhyar. 2010. Uji daya hambat dan analisis KLT biotautografi ekstrak akar dan buah bakau (*Rhizopora stylosa* Griff.) terhadap *Vibrio* Harveyi [Skripsi]. Makasar : Fakultas Farmasi. Universitas Hasanudin
- Chudlori1 Busyron, M Kuswandi, Peni Indrayudha. 2012. Pola kuman dan resistensinya terhadap antibiotika dari spesimen pus di RSUD dr. Moewardi Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Cushnie TPT, A.J Lamb. 2005. Antimicrobial Activity of Flafonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26:343-356.
- Dewi Amalia K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Gadjah Mada.
- Ganiswara. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V. Jakarta:Gaya Baru.
- Hariana, Arief. 2013. *202 Manfaat Tanaman & Khasiatnya*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haryanto, Sugeng. 2012. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta : Penerbit Palmall.
- Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. 2010. *Farmakognosi dan Fisioterapi*. Syarief WR, Aisyah C, Elviana E, Penerjemah : Hadinata AH, editor, Jakarta : Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari : *Fundamentals of Pharmacognosy ang phytotherapy*
- Isdanto M. 2011. *Proses produksi jamu kapsul Herbatas di CV Herbairama persada* Yogyakarta Bantul Yogyakarta [Karya Tulis Ilmiah]. Surakarta : Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2005. *Mikrobiologi untuk profesi Kesehatan*, Bonang G, Penerjemah; Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Jawetz E, Melnick JL. Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi untuk profesi Kesehatan*. Edisi 25. Boning G, Penerjemah; Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran ECG
- Kemenkes. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kusumadewi, Galuh Candra. 2008. Uji Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Pada Kelinci Jantan Yang Dibeabani Glukosa. Surakarta. [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhamadiyyah Surakarta.

- Levinson, W. 2004. *Medical Microbiology and Immunology, Examination and Board Review*, 8th edition. P.9, 15, 64, 103-107. McGraw Hill. New York.
- Manoi F, Balitro. 2009. *Binahong (Anredera cordifolia)* sebagai obat. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Mus. 2008. Informasi Spesies Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis).
- Nuria MC, Faizatun A, Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.
- Praeparandi. 2006. Card system analisis kimia farmasi kualitatif. Bandung : Seksi diktat stenhil. Hal 9.
- Sari, Yeni Dianita, Siti Nur Djannah, Laela Hayu Nurani. 2010. Uji aktivitas antibakteri daun sirsak (*Annona muricata* L.) secara in Vitro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta profil kromatografi lapis tipisnya. Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran Medical Microbiology*. Surabaya.
- Syafira AU, Apriliana E. 2016. Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata* L) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. *Majority* 5(1).
- Tuna MR, Kepel BJ, Leman MA. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT* 4(4).
- Wardhani Lilies Kusuma, Sulistyani Nanik. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*anredera scandens* (L) Moq) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil kromatografi kertas lapis tipis. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Wypych, George. 2001. *Handbook Of Solvents*. New York : Chemt Tec Publishing.
- Yuwono. 2011. MRSA: Ancaman Serius Pada Penatalaksanaan Pasien Infeksi. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kesehatan, Universitas Negeri Palembang.

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Determinasi Daun Sirsak



UPT- LABORATORIUM

No : 247/DET/UPT-LAB/10/III/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

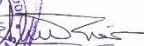
Menerangkan bahwa :


Nama : Nanda Sandhy A
NIM : 07140313 N
Fakultas : Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Sirsak / *Annona muricata***.
Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA
1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156a – 162b – 163a – 164b – 165b – 166a. familia 50. Annonaceae. 1b – 2. Annona. 1a. ***Annona muricata***.

Deskripsi :


Habitus : Pohon, tinggi 3 – 8 meter.
Akar : Tunggang.
Batang : Bulat, berkayu, percabangan monopodial.
Daun : Tunggal, bangun bulat memanjang, ujung meruncing pendek, pangkal runcing, tepi rata, tulang daun menyirip, seperti kulit, panjang 10,5 – 13,1 cm, permukaan atas hijau tua dan mengkilat, permukaan bawah hijau muda, tangkai pendek.
Bunga : Tunggal, beraturan, berhadapan dengan daun. Daun kelopak 3, kecil. Daun mahkota berdaging, 3 yang terluar hijau kemudian kuning, panjang 3,5 – 5 cm, 3 yang terdalam bulat telur, kuning muda. Daun kelopak dan daun mahkota terluar pada kuncup tersusun seperti katup, daun mahkota terdalam seperti genting. Dasar bunga sangat cekung. Benangsari banyak. Penghubung ruangsari di atas ruang sari melebar, menutup ruangnya, putih. Bakal buah banyak, bakal biji 1. Tangkai putik langsing, berambut. Kepala putik silindris.
Buah : Buah majemuk tak beraturan, berduri tempel, bentuk telur miring atau bengkok, hijau tua, daging buah putih, masam.
Biji : Hitam, mengkilat.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT PradnyaParamita. Jl. KebonSirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 10 Maret 2018
Terdeterminasi

Kartinah Wijosoendjojo, SU



Jl. Let.jen Sutuyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.co.id

Lampiran 2. Determinasi Daun Binahong



No : 247/DET/UPT-LAB/25/V/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :


Nama : Nanda Sandhy A
NIM : 07140313 N
Fakultas : Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi


Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.)**
Determinasi berdasarkan **Backer : Flora of Java**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – b13b – b14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31b – 403 b – 404b – 405b – 414a – 415b – 451b – 466b –
467b – 468b – 469b – 470e – 541a. familia 49. Basellaceae. 1b. *Anredera*. ***Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.**

Deskripsi :

Habitus : Herba, menahun, tumbuh menjalar.
Akar : Rimpang.
Batang : Lunak, silindris, berwarna merah, saling membelit, masif, permukaan halus, dapat membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan permukaan kasar dan tidak beraturan.
Daun : **Tunggal, bulat telur, tangkai pendek, berseling, pangkal berlekuk sampai runcing, ujung runcing atau tumpul, tepi rata, permukaan daun licin, panjang 5,6 – 7,1 cm, lebar 3,2 – 5,2 cm, tulang daun menyirip, tebal, berdaging, hijau tua.**
Bunga : Majemuk, tandan, bertangkai panjang, muncul dari ketiak daun, daun mahkota 5, berwarna krem keputihan, tidak berlekatan, berbau harum.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surakarta, 25 Juni 2018
Kartina Wirjosoendjojo

088. Kartina Wirjosoendjojo, SU.

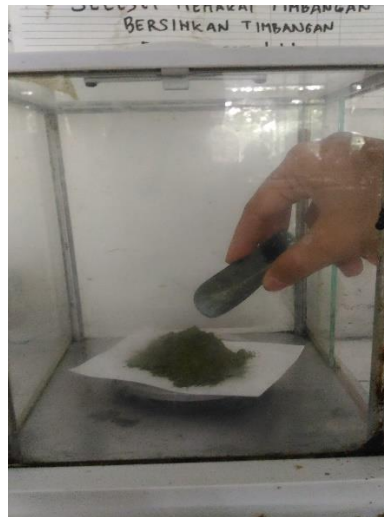


Jl. Let. Jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
 Homepage : www.setiabudi.ac.id e-mail : info@setiabudi.co.id

Lampiran 3. Serbuk Daun Sirsak dan Daun Binahong



Serbuk daun sirsak



Serbuk daun Binahong

Lampiran 4. Penetapan Kadar Air



Binahong

Sirsak



Penampung air berskala Daun Sirsak

PERITUNGAN KADAR AIR PADA DAUN SIRSAK (THERMOVOLUMETRI)

$$\begin{aligned} \text{KADAR AIR (\%)} &= \frac{\text{SKALA}}{\text{BERAT BAHAN}} \times 100\% \\ &= \frac{2,0}{20,0110} \times 100\% = 99,9\% \end{aligned}$$



Penampungan air berskala daun Binahong

PERHITUNGAN KADAR AIR BINAHONG (THERMOVOLUMETRI)

$$\begin{aligned} \text{KADAR AIR (\%)} &= \frac{\text{SKALA}}{\text{BERAT BAHAN}} \times 100\% \\ &= \frac{2,0}{20,0129} \times 100\% = 99,9\% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Persentase Bobot Ekstrak Maserasi Daun Sirsak dan Daun Binahong

Perbandingan	Serbuk Daun Sirsak (g)	Serbuk Daun Binahong (g)	Ekstrak Yang Didapat (g)	Rendemen (%)
0 : 1	100	0	16,25	16,25
1 : 0	0	100	14,17	14,17
1 : 1	50	50	12,48	12,48
1 : 2	33	67	8,65	8,65
2 : 1	67	33	10,20	10,2

1. Perhitungan Ekstrak yang didapat :

Bobot ekstrak – bobot Gelas kosong = ekstrak yang didapat

$$0:1 = 145,24 \text{ g} - 128,99 \text{ g} = 16,25 \text{ g}$$

$$1:0 = 143,16 \text{ g} - 128,99 \text{ g} = 14,17 \text{ g}$$

$$1:1 = 141,48 \text{ g} - 128,99 \text{ g} = 12,48 \text{ g}$$

$$1:2 = 137,65 \text{ g} - 128,99 \text{ g} = 8,65 \text{ g}$$

$$2:1 = 139,19 \text{ g} - 128,99 \text{ g} = 10,20 \text{ g}$$

2. Perhitungan Rendemen (%) :

Bobot basah X 100%

Bobot Kering

$$0:1 = \frac{\text{Bobot basah}}{\text{Bobot Kering}} \times 100\% = \frac{16,25 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 16,25\%$$



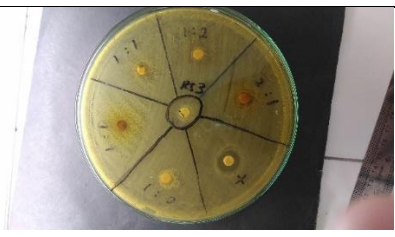



$$1:0 = \frac{\text{Bobot basah}}{\text{Bobot Kering}} \times 100\% = \frac{14,17 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 14,17\%$$

$$1:1 = \frac{\text{Bobot basah}}{\text{Bobot Kering}} \times 100\% = \frac{12,48 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 12,48\%$$

$$1:2 = \frac{\text{Bobot basah}}{\text{Bobot Kering}} \times 100\% = \frac{8,65 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 8,655\%$$

$$2:1 = \frac{\text{Bobot basah}}{\text{Bobot Kering}} \times 100\% = \frac{10,20 \text{ g}}{100} \times 100\% = 10,2\%$$

Lampiran 6. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan konsentrasi 80%

	<p>1. Hasil dari uji aktivitas antibakteri Isolate Pus Pasien</p>
	<p>2. Hasil dari uji aktivitas antibakteri Isolate pus pasien</p>
	<p>3. Hasil dari uji aktivitas antibakteri Isolate pus Pasien</p>
	<p>1. Hasil dari uji aktivitas antibakteri kultur laboratorium</p>
	<p>2. Hasil dari uji aktivitas antibakteri kultur laboratorium</p>
	<p>3. Hasil dari uji aktivitas antibakteri kultur laboratorium</p>

Lampiran 7. Uji Senyawa Kimia

Saponin Sirsak	Flavonoid Sirsak	Tanin Sirsak
		
		
Saponin Binahong	Alkaloid Binahong	Flavonoid Binahong

Lampiran 8. Uji Statistik Kolmogorov-Smirnov Test

Uji Normalitas isolate pus pasien.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		Zona
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.2667
	Std. Deviation	.96115
Most Extreme Differences	Absolute	.276
	Positive	.276
	Negative	-.191
Kolmogorov-Smirnov Z		1.069
Asymp. Sig. (2-tailed)		.203

Uji Normalitas kultur Laboratorium

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		Zona
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	10.4667
	Std. Deviation	1.30201
Most Extreme Differences	Absolute	.307
	Positive	.307
	Negative	-.160
Kolmogorov-Smirnov Z		1.188
Asymp. Sig. (2-tailed)		.119

Lampiran 9. Uji Statistik One Way Anova

Uji Oneway anova pada kultur Isolate pasien

Zona

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.500	4	10	.049

ANOVA

Zona

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.733	4	1.933	1.208	.366
Within Groups	16.000	10	1.600		
Total	23.733	14			

Homogeneous Subsets

Zona

Student-Newman-Keuls^a

Kriteria	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Binahong	3	9.3333
S1:B2	3	10.0000
S1:B1	3	10.6667
S2:B1	3	11.0000
sirsak	3	11.3333
Sig.		.359

Uji Oneway Anova pada sampel Kultur Laboratorium

Hasil uji one way anova pada sampel kultur laboratorium.

Test of Homogeneity of Variances

Zona

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.000	4	10	.004

ANOVA

Zona

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.933	4	1.233	1.542	.263
Within Groups	8.000	10	.800		
Total	12.933	14			

Homogeneous Subsets

Zona

Student-Newman-Keuls^a

Kriteria	N	Subset for alpha = 0.05
		1
S1:B2	3	8.6667
Binahong	3	9.0000
S2:B1	3	9.0000
S1:B1	3	9.3333
sirsak	3	10.3333
Sig.		.227

Lampiran 10. Ethical Clearance

4/25/2018

Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 542 / IV / HREC / 2018

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L) DAN DAUN BINAHONG
 (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Principal investigator
 Peneliti Utama : NANDA SANDHY ASTUTI
 07140313 N

Location of research
 Lokasi Tempat Penelitian : Laboratorium Mikrobiologi RSUD Dr. Moewardi

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 25 Apr 2018
 Chairman
 Ketua
 KOMISI
 ETIK PENELITIAN KESEHATAN
 Dr. Han Wijoso, dr. Sp.F.MM
 MP. 19621022-199503 1 001

Lampiran 11. Bukti pengambilan Sampel Isolate pus pasien di RSUD Dr. Moewardi.



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TENGAH
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. MOEWARDI
 Jalan Kolonel Sutarto 132 Surakarta Kode pos 57126 Telp (0271) 634 634,
 Faksimile (0271) 637412 Email : rsmoewardi@jatengprov.go.id
 Website : rsmoewardi.jatengprov.go.id

Surakarta, 14 Mei 2018

Nomor : 597 / DIK / V / 2018
 Lampiran : -
 Perihal : Pengantar Penelitian

Kepada Yth. :
Ka. Instalasi Lab. Mikrobiologi & Parasitologi Klinik

RSUD Dr. Moewardi
 di-
SURAKARTA

Memperhatikan Surat dari Dekan FIK-USB Surakarta Nomor : 401/H6-04/13.12.2017; perihal Permohonan Ijin Penelitian dan disposisi Direktur tanggal 19 April 2018, maka dengan ini kami menghadapkan siswa:

Nama : NANDA SANDHY ASTUTI
NIM : 07140313 N
Institusi : **Prodi D.IV Analisis Kesehatan FIK-USB Surakarta**

Untuk melaksanakan Penelitian dalam rangka pembuatan **Skripsi** dengan judul : **"Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun sirsak (Annona muricata L) dan Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) Terhadap Baketri Staphylococcus aureus"**.

Demikian untuk menjadikan periksa dan atas kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Kepala
 Bagian Pendidikan & Penelitian,

Ari Subagio, SE., MM.
 NIP. 196601311995031002

Tembusan Kepada Yth.:

1. Wadir Umum RSDM (sebagai laporan)
2. Arsip

RSDM, Cepat, Tepat, Nyaman dan Mudah