

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN
AIR DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA* L)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh:

**Murni Gregori Kolimon
19133935 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN
AIR DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA* L)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh :

**Murni Gregori Kolimon
19133935A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

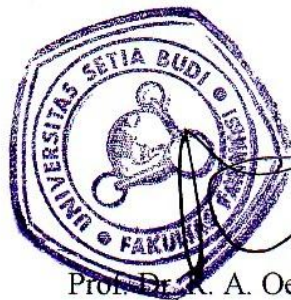
Berjudul

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA* L) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Oleh :

**Murni Gregori Kolimon
19133935A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 8 Agustus 2017



Dekan,

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Prof. Dr. K. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing utama,

Ana Indrayati, M.Si.,Dr.

Pembimbing Pendamping,

Dra. Kartinah W. SU

Penguji :

1. Ismi Rahmawati, S.Si.,M.Si.,Apt

2. Sunarti, S.Farm.,M.Sc.,Apt

3. Anita Nilawati, S.Farm.,M.Farm.,Apt

4. Ana Indrayati, M.Si.,Dr

PERSEMBAHAN

**SEBAB HIDUP KAMI INI ADALAH HIDUP KARENA PERCAYA, BUKAN
KARENA MELIHAT**

2 KORINTUS 5:7

**BANYAK ORANG MENYEBUT DIRI BAIK HATI, TETAPI ORANG YANG
SETIA, SIAPAKAH MENEMUKANNYA?**

AMSAL 20:6

Terima kasih untuk:

1. Tuhan Yesus Kristus
2. Baba, Mama, dan kedua kakak tercinta
3. Keluarga besar PMK Katharos Universitas Setia Budi
4. Ibu Ana dan Ibu Kartinah yang sangat-sangat luar biasa
5. Teman-teman rakat angkatan 2013 (Adelya, Brigita, Ance, Neldi, Etris, dan Anas)
6. Kakak dan adik kontrakan 'Soe' (kak Efi, kak Ria, kak Maksi, Nimsi, Juan, Ika, Ito)
7. Semua keluarga, sahabat dan orang-orang terkasih
8. Almamater, Bangsa, dan Negara tercinta

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 8 Agustus 2017



Murni Gregori Kolimon

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah Bapa di surga yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annova muricata L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus ATCC 25923*,”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Ana Indrayati, M.Si., Dr selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra Kartinah. W. S, SU selaku dosen pendamping yang telah memberikan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dan saran yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
6. Segenap dosen, karyawan dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah banyak membantu bagi kelancaraan pelaksanaan skripsi ini.
7. Perpustakaan Universitas Setia Budi Surakarta, tempat mencari sumber buku untuk menyelesaikan dan menyempurnakan skripsi ini.
8. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran. Akhirnya, penulis

berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, 8 Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Kegunaan Penelitian.....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
A. Uraian Tanaman.....	3
1. Klasifikasi Tanaman.....	3
1.1. Nama umum/nama dagang.....	3
1.2. Nama lain.	3
2. Deskripsi Tanaman.....	3
3. Manfaat Tanaman.....	4
4. Kandungan Kimia	4
4.1 Flavonoid	4
4.2 Alkaloid.	4
4.3 Saponin.	5
B. Simplisia	5
1. Pengertian Simplisia.....	5
2. Pengambilan Simplisia	6
3. Pengeringan Simplisia	6

C.	Ekstraksi	6
1.	Pengertian Ekstraksi	6
2.	Metode Penyarian.....	7
3.	Metode Perkolasi.....	7
D.	Pelarut.....	8
E.	Antibakteri	9
1.	Definisi	9
2.	Mekanisme kerja antibiotik	9
2.1	Menghambat sintesis dinding sel bakteri.....	9
2.2	Menghambat metabolisme sel bakteri	9
2.3	Menggangu keutuhan membran sel bakteri	10
2.4	Menghambat sintesis protein sel bakteri.....	10
2.5	Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri	10
F.	Uji Aktivitas Antibakteri	10
G.	Media.....	11
H.	Sterilisasi	11
I.	<i>Stahpylococcus aureus</i> ATCC 25923	12
1.	Morfologi dan Identifikasi.....	12
2.	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	13
3.	Pathogenesis.....	13
J.	Amoksisilin.....	14
K.	Landasan Teori.....	14
L.	Hipotesis	17
BAB III METODE PENELITIAN		18
A.	Populasi dan Sampel	18
1.	Populasi	18
2.	Sampel	18
B.	Variabel Penelitian.....	18
1.	Identifikasi variabel utama	18
2.	Klasifikasi variabel utama	18
3.	Definisi operasional variabel utama	19
C.	Alat dan Bahan.....	20
1.	Alat	20
1.1.	Alat untuk pembuatan serbuk simplisia.....	20
1.2.	Alat perkolasi	20
1.3.	Alat uji aktivitas antibakteri.....	21
2.	Bahan.....	21
2.1	Bahan utama.....	21
2.2	Bahan kimia	21
D.	Jalannya penelitian.....	21
1.	Determinasi dan identifikasi tanaman	21
1.1.	Determinasi tanaman	21
1.2.	Deskripsi tanaman	21
2.	Pembuatan serbuk daun sirsak	21
3.	Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak	22

4.	Pembuatan ekstrak perkolasi daun sirsak (<i>Annona muricata</i> .L)	22
5.	Tes bebas etanol ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> .L) ...	22
6.	Pengujian kandungan kimia fraksi ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> .L)	23
6.1.	Identifikasi flavonoid	23
6.2.	Identifikasi alkaloid	23
6.3.	Identifikasi saponin	23
7.	Fraksinasi	23
8.	Pembuatan suspensi bakteri uji.	24
9.	Identifikasi bakteri uji.....	24
9.1.	Identifikasi morfologi	24
9.2.	Pewarnaan	24
9.3.	Uji katalase.....	24
9.4.	Uji koagulase.....	24
10.	Pengujian antibakteri daun sirsak secara difusi	24
11.	Pengujian antibakteri daun sirsak secara dilusi	25
12.	Analisis hasil.....	25
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		29
1.	Determinasi dan identifikasi tanaman sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	29
2.	Hasil pembuatan serbuk daun sirsak	29
2.1	Pengumpulan bahan.....	29
2.2	Pengeringan daun sirsak	29
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak.....	29
4.	Hasil pembuatan ekstrak perkolasi daun sirsak	30
5.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun sirsak	30
6.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirsak	31
7.	Fraksinasi dan identifikasi kandungan kimia fraksi daun sirsak	31
7.1	Hasil fraksi <i>n</i> -heksan	32
7.2	Hasil fraksi etil asetat	32
8.	Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	33
9.	Pembuatan suspensi bakteri uji	35
10.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi.....	35
11.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		41
A.	Kesimpulan	41
B.	Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMPIRAN		45

DAFTAR GAMBAR

Halaman

- Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi pada daun sirsak (*A. muricata* L)..... 26
- Gambar 2. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak daun sirsak terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi. 27
- Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak daun sirsak terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi. 28

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak	29
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan menggunakan alat <i>moisture balance</i>	30
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak perkolasi	30
Tabel 4. Hasil bebas tes etanol ekstrak daun sirsak	30
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun sirsak	31
Tabel 6. Rendemen hasil fraksinasi <i>n</i> -heksan.....	32
Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi etil asetat	32
Tabel 8. Rendemen hasil fraksinasi air	33
Tabel 9. Hasil identifikasi bakteri dengan uji katalase dan koagulase	35
Tabel 10. Diameter hambat uji aktivitas secara difusi terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	36
Tabel 11. Hasil dilusi antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi daun sirsak	46
Lampiran 2. Foto daun dan serbuk daun sirsak	47
Lampiran 3. Foto perkolator, corong pisah dan evaporator	48
Lampiran 4. Foto alat timbangan, vortex, autoklaf, dan inkas.	49
Lampiran 5. Foto Moisture, oven, dan Inkubator	50
Lampiran 6. Foto ekstrak daun sirsak , fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat dan air	51
Lampiran 7. Foto identifikasi senyawa kimia daun sirsak	52
Lampiran 8. Foto suspensi bakteri uji dan identifikasi bakteri secara biokimia	53
Lampiran 9. Pengenceran difusi fraksi teraktif etil asetat konsentrasi 50%; 25%; 12,5%	54
Lampiran 10. Foto hasil uji dilusi fraksi teraktif terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Lampiran 11. Perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak.....	57
Lampiran 12. Perhitungan penetapan susut pengeringan menggunakan alat <i>moisture balance</i>	57
Lampiran 13. Perhitungan rendemen fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun sirsak	58
Lampiran 14. Perhitungam diameter zona hambat pada uji antibakteri pada daun sirsak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293 secara difusi.	60
Lampiran 15. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Untuk Uji Dilusi	61
Lampiran 16. Analisis data uji Anova antara ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -Heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi 50%, 25%, 12.5% pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	64

INTISARI

KOLIMON MURNI., 2017 UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK(*Annona muricata L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Daun sirsak (*Annona muricata L*) mempunyai kandungan kimia flavonoid, alkaloid, dan saponin yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek aktivitas ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L*) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Serbuk daun sirsak diekstraksi dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air. Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dan dilusi dengan berbagai konsentrasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun sirsak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Rata –rata diameter hambat fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 50% diameter hambat berturut-turut adalah 15 mm; 17,7 mm; 10,7 mm. Fraksi etil asetat dari ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pada uji dilusi didapatkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 6,25%.

Kata kunci : daun sirsak, *Staphylococcus aureus*, difusi, dan dilusi.

ABSTRACT

KOLIMON MURNI., 2017 ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER FRACTIONS FROM LEAF ETHANOLIC EXTRACT OF SIRSAK (*Annona muricata* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY SURAKARTA.

Sirsak (*Annona muricata* L) leaf have chemical contents of flavonoid, alkaloid, and saponin are thought to have antibacterial activity. The purpose of this study was to determine the activity of the ethanol extract, fraction of *n*-hexane, ethyl acetate fraction, and water fraction from sirsak (*Annona muricata* L) antibacterial of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Sirsak leaf extracted by percolation method using 96% ethanol solvent then fractionated by using *n*-hexane, ethyl acetate and water solvent. Ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction were tested for antibacterial activity using diffusion and dilution method with various concentrations.

The results showed that the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate fraction, and water fraction of soursop leaf ethanol extract has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. -rata average diameter of inhibitory fraction of *n*-hexane, ethyl acetate fraction, and the fraction of water in *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 at concentrations of 50% inhibition respectively diameter is 15 mm; 17.7 mm; 10,7 mm. Ethyl acetate fraction of sirsak leaf extract has the most effective antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. At Dilution test values obtained KBM *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was 6.25%.

Keywords: soursop leaf, *Staphylococcus aureus*, diffusion, and dilution

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah. Selain itu Indonesia juga memiliki bermacam-macam tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai sumber kesehatan, salah satunya adalah sirsak (*A. muricata* L). Sirsak (*A. muricata* L) adalah buah yang termasuk dalam golongan *Annonaceae* dan telah diteliti sejak lama karena khasiatnya. Setiap bagian dari sirsak diketahui memiliki kandungan senyawa kimia yang berkhasiat dan sering digunakan dalam pengobatan tradisional oleh masyarakat di seluruh dunia tidak hanya di Indonesia. Teh daun sirsak digunakan oleh masyarakat Brasil untuk mengatasi penyakit pada hati (liver), sedangkan di Jamaica dan Haiti, batang dan daun sirsak banyak digunakan sebagai antispasmodik, sadatif, flu, batuk dan asma. (De sousa dkk., 2010)

Sirsak memiliki aktivitas antibakteri yang dapat membunuh bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Vieira, dkk (2010) melaporkan bahwa ekstrak daun sirsak aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*, *Vibrio cholerae*, dan *Escherichia coli*. Berbeda halnya dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Vijayameena dkk. (2013) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun, batang, dan akar sirsak menunjukkan aktivitas antibakteri pada *S aureus* dan *E. coli*, serta beberapa bakteri lain, seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli* dan *Streptococcus pyogenes*.

Ekstrak etanol daun sirsak diketahui mengandung tanin dan flavonoid, sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan fraksi kloroform dari ekstrak tersebut yang kandungan flavonoidnya lebih sedikit (Haro dkk., 2014). Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak air dan ekstrak etanol daun sirsak oleh Solomon dkk., (2014) menunjukkan bahwa kedua ekstrak mengandung senyawa steroid, glikosida, alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Ekstrak air daun sirsak juga terdapat kandungan vitamin C, superoxide dismutase (SOD), dan fenol yang cukup tinggi (Vijayameena dkk., 2013). Sementara ekstrak

etanol daun sirsak juga diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin (Vijayameena dkk., 2013).

S. aureus adalah jenis bakteri Gram positif, tidak bergerak karena tidak mempunyai flagella, tidak membentuk spora, berbentuk bulat kecil, dan biasanya hidup bergerombol seperti buah anggur, dari berbagai manifestasi *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi kulit minor, seperti jerawat, impetigo, bisul, dan selulitis (El-Banna, 1983).

B. Rumusan Masalah

1. Apakah fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air daun sirsak (*A. muricata* L) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923?
2. Dari ketiga fraksi manakah yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap *S. aureus* ATCC 25923?
3. Berapakah nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air daun sirsak (*A. muricata* L) terhadap *S. aureus* ATCC 25923 sebagai antibakteri?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air daun sirsak (*A. muricata* L) terhadap *S. aureus* ATCC 25923.
2. Menentukan fraksi teraktif dari daun sirsak (*A. muricata* L) terhadap *S. aureus* ATCC 25923.
3. Menentukan KHM dan KBM dari fraksi teraktif daun sirsak (*A. muricata* L) terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan kepada masyarakat luas tentang aktivitas daun sirsak sebagai antibakteri dan dapat dikembangkan sebagai obat fitofarmaka, serta dapat memberikan landasan ilmiah bagi peneliti selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Tanaman

1. Klasifikasi Tanaman

Tumbuhan sirsak dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Ranales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>A. muricata</i> Linnoeus

1.1. Nama umum/nama dagang : sirsak

1.2. Nama lain. Tanaman sirsak memiliki nama daerah :nangka sebrang, nangka landa (Jawa), sirsak (Sunda), nangkelan (**Madura**), srikaya jawa (Bali), boh lona (Aceh), durio ulondro (Nias), durian betawi (Minangkabau), jambu landa (lampung), nangko belando (Palembang) (Depkes RI 2001).

2. Deskripsi Tanaman

Sirsak merupakan tanaman dengan tinggi pohon sekitar 8 meter. Batang berwarna coklat, bulat, dan bercabang. Sirsak mempunyai daun berbentuk telur atau lanset, ujung runcing, tepi rata, pangkal meruncing, pertulangan menyirip, panjang tangkai 5 mm, hijau kekuningan. Bunga terletak pada batang atau ranting, daun kelopak kecil, kuning keputi-putihan, benang sari banyak berambut. Buahnya bukanlah buah sejati, yang dinamakan "buah" sebenarnya adalah kumpulan buah-buah (buah agregat) dengan biji tunggal yang saling berimpitan dan kehilangan batas antar buah. Daging buah sirsak berwarna putih dan berbiji hitam. Akar berwarna coklat muda, bulat dengan perakaran tunggang (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

3. Manfaat Tanaman

Daun sirsak dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk kanker, yakni dengan mengkonsumsi air rebusan air sirsak. Selain untuk pengobatan kanker tanaman sirsak juga dimanfaatkan untuk pengobatan demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, anti mikroba sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu, dan lainnya, daun sirsak juga dapat dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan. Manfaat daun sirsak bagi kesehatan mungkin tidak asing lagi. Hal ini sering dengan banyaknya kemunculan beragam produk kesehatan herbal yang terbuat dari daun sirsak. Beberapa macam manfaat yang terdapat di daun sirsak untuk kesehatan yaitu : mengobati kanker dan tumor (Mardiana 2011).

Semua bagian tumbuhan sirsak dapat digunakan sebagai bahan obat-obatan alami termasuk kayu, daun, akar, buah, dan biji. Setiap pohon memiliki khasiat dan kandungan yang berbeda.

4. Kandungan Kimia

Kandungan kimia daun sirsak adalah flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin (Purwatresna 2012).

4.1 Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa fenol yang mengandung 15 atom karbon sehingga rangka dasar yang mempunyai struktur dasar C₆-C₃-C₆. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar dan larut dalam air yang dapat juga diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada lapisan air setelah dikocok dengan eter. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang merupakan bentuk kombinasi glikosida. Flavonoid ini terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh (Harborne 1987). Beberapa turunan flavonoid terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi dan hanya terdapat pada organ-organ tertentu dari tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga, biji, dan kulit kayu. Flavonoid adalah senyawa antioksidan yang lebih kuat dari vitamin E. Senyawa ini mampu menstimulir atau merangsang kekebalan tubuh (Kardiman dan Kusuma 2004).

4.2 Alkaloid. Alkaloid adalah zat yang berasal dari tanaman yang mengandung nitrogen, biasanya dalam bentuk heterosiklik dalam ikatan primer, sekunder, tersier, atau kuartar, bersifat basa mempunyai khasiat farmakologis

tertentu yang jelas, umumnya berasa pahit. Alkaloid merupakan senyawa organik bersifat basa yang dihasilkan oleh sejumlah tanaman. Kadar alkaloid dalam tanaman sangat bervariasi tergantung pada cara penanaman dan waktu panen. Kebanyakan metode dalam farmakope merupakan metode untuk penetapan kadar alkaloid jumlah. Biasanya alkaloid jumlah cara menganalisis dari kulit tanaman.

Penyiapan sampel meliputi pengolahan dan penyarian, pemurnian dan penetapan kadar. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tanaman menggunakan air yang diasamkan digunakan untuk melarutkan alkaloid sebagai garam, atau bahan tanaman dapat dibasakan dengan natrium karbonat, dan basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter (Robinson 1995).

4.3 Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat mendeteksi berdasarkan kemamuan busa yang dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin larut dalam air dan etanol tapi tidak larut dalam eter. Saponin ada 2 jenis yaitu yang mempunyai glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida dengan struktur terpenoid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal (Harbone 1987).

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, atau zat yang dihasilkan oleh hewan yang belum diolah berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia belum berupa zat kimia murni (Depkes 1985).

2. Pengambilan Simplisia

Pengumpulan bahan baku merupakan tahapan penting dalam menentukan kualitas bahan baku yang akan digunakan. Dalam tahap ini faktor yang berperan penting adalah waktu panen. Waktu panen Simplisia sangat berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalam bagian tanaman yang akan di panen. Waktu panen yang tepat adalah ketika bagian tanaman yang akan digunakan mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang maksimal (Depkes 1985).

3. Pengeringan Simplisia

Mendapatkan Simplisia yang tidak mudah rusak dan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri sehingga dapat disimpan lebih lama perlu adanya pengeringan. Tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik yang akan mencegah penurunan waktu atau merusakkan simplisia. Pengeringan bahan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat pengering dan juga dapat dengan pengeringan teduh atau pengeringan di bawah sinar matahari. Pengeringan ditempat teduh pada umumnya digunakan untuk bahan baku simplisia yang kandungan utamanya minyak atsiri atau senyawa lain yang bersifat termolabil. Pengeringan di bawah sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karna mudah dan murah (Depkes 1985). Pengeringan buatan umumnya menghasilkan simplisia dengan mutu lebih baik, karena hasil pengeringan yang lebih merata, waktu yang diperlukan relatif cepat dan tidak tergantung cuaca, kadar air dalam simplisia dapat ditakan serendah mungkin (Depkes 2008).

C. Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM 2000).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Dirjen POM 1986).

2. Metode Penyarian

Penyarian merupakan proses perpindahan massa zat yang aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari. Penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas (Depkes RI 1986). Untuk penyarian ini menetapkan sebagian cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air dan eter. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun netral, absorbsinya baik, etanol dapat dicampur dengan air dalam segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk proses pemekatan (Depkes RI 1986).

3. Metode Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Perinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh.

Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan diatasnya, kurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain gaya berat. Kekentalan, daya larut tegangan permukaan, difusi, osmosa, adhesi daya kapiler dan gaya gesekan (friksi).

Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena aliran cairan penyari menyebabkan adanya pengantian larutan yang terjadi dengan konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi. Ruang diantara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran

tempat mengalir cairan penyari. Saluran kapiler terbentuk kecil maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

Alat yang digunakan untuk perkolasi disebut perkolator, cairan yang digunakan untuk menyari disebut cairan penyari atau menstrum, larutan zat aktif yang keluar dari perkolator disebut sari atau perkolat. Sedangkan sisa setelah dilakukannya penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi.

Bentuk perkolator ada 3 macam yaitu perkolator berbentuk tabung, perkolator berbentuk paruh dan perkolator berbentuk corong. Pemilihan perkolator tergantung pada jenis serbuk simplisia yang akan disari. Serbuk kina yang mengandung sejumlah besar zat aktif yang larut, tidak baik bila diperkolasi dengan alat perkolasi yang sempit, sebab perkolat akan segera menjadi pekat dan berhenti mengalir. Pembuatan tingtur dan ekstrak cair, jumlah cairan penyari yang tersedia lebih besar dibandingkan dengan jumlah cairan penyari yang diperlukan untuk melarutkan zat aktif. Pembuatan sediaan digunakan perkolator lebar untuk mempercepat proses perkolasi (Depkes 1986).

D. Pelarut

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, klorofil, lemak, tanin dan saponin. Etanol yang dipertimbangkan sebagai larutan penyari karna lebih selektif, kapang dan kuman kulit tidak dapat tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada skala perbandingan, dan panas yang diperlukan lebih sedikit (Depkes 1986). Etanol adalah pelarut serba guna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan (Harbourne 1987).

Etanol biasanya menghasilkan suatu bahan yang aktif yang optimal, dimana bahan pengotornya hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengestraksi (Voigt 1994).

E. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri adalah suatu zat atau senyawa yang dapat menekan atau membunuh pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Senyawa atau zat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, artinya senyawa tersebut harus bersifat sangat toksik terhadap bakteri tetapi relatif tidak toksik hospes (Azwar dkk, 1994).

Berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai zat bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal sebagai zat bakterisid. Kadar minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya masing-masing dikenal sebagai KHM) dan KBM. (Ganiswara 2007).

2. Mekanisme kerja antibiotik

Mekanisme kerja antibiotik merupakan peristiwa penghambatan suatu bakteri oleh senyawa antibakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya antibiotik dibagi menjadi 5 kelompok.

2.1 Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Mekanisme kerusakan dinding sel dapat disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Umumnya senyawa antimikroba dapat menghambat sintesis peptidoglikan karena kemampuan dari senyawa tersebut dalam menghambat enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan seperti karboksipeptidase, endopeptidase, dan transpeptidase. Jika aktivitas enzim-enzim tersebut dihambat oleh senyawa antibakteri maka sifat enzim autolitik sebagai reseptor hilang dan enzim tidak mampu mengendalikan aktivitasnya sehingga dinding sel akan mengalami degradasi (Maryuni 2008).

2.2 Menghambat metabolisme sel bakteri. Senyawa antibakteri dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme dengan cara mengganggu aktivitas enzim-enzim metabolik. Beberapa senyawa antibakteri yang

dapat menginaktivasi enzim adalah asam benzoat, asam lemak, sulfit dan nitrit. Nitrit dapat menghambat sistem enzim fosfat dehidrogenase sehingga mengakibatkan reduksi ATP dan eksresi pivurat dalam bakteri *S. aureus* ATCC. Asam benzoat dapat menghambat aktivitas α -ketoglutaratdehidrogenase dan suksinat dehidrogenase. Hal ini akan menghambat konversi α -ketoglutarat menjadi suksinil-KoA dan suksinat menjadi fumarat (Maryuni 2008).

2.3 Mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Sel bakteri dikelilingi oleh struktur kaku yang disebut membran sel, yang melindungi sitoplasma baik osmotik maupun mekanik. Setiap zat yang dapat merusak membrane sel atau mencegah sintesisnya akan menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap osmotik. Adanya tekanan osmotik dalam sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Maryuni 2008).

2.4 Menghambat sintesis protein sel bakteri. Hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat yang dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi ireversibel komponen-komponen selular yang vital ini (Maryuni 2008).

2.5 Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Kim dkk., (1995) menjelaskan bahwa suatu senyawa yang bersifat antimikroba dapat mengganggu pembentukan asam nukleat sehingga transfer informasi genetik akan terganggu. Hal ini disebabkan senyawa antimikroba menghambat aktivitas DNA polimerase yang selanjutnya dapat menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga mengganggu proses pembelahan sel untuk pembiakan.

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibiotik bertujuan untuk menetapkan potensi aktivitas antibakteri, konsentrasinya dalam cairan tubuh dan jaringan, dan kepekaan mikroorganisme terhadap agen antibakteri. *S. aureus* 25923 sensitif

terhadap amoksisilin. Amoksisilin merupakan antibakteri spektrum luas yang bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian bakteri Gram positif dan beberapa Gram negatif yang patogenik (Werckenthin 2001 ; pengov 2003). Sefalosporin generasi pertama merupakan turunan sefalosporin tahan terhadap β -laktamase luar sel yang dihasilkan oleh *S. aureus* ATCC 25923. Waktu paro eliminasinya relatif pendek dan kemampuan untuk menembus cairan serebrospinal rendah (Siswandono dan Bambang soekardjo 1995).

G. Media

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Persyaratan nutrien mikroorganisme amat beragam, namun sebagai makhluk hidup mereka mempunyai kebutuhan dasar yang sama, yang meliputi air, karbon, nitrogen, dan faktor tumbuh. Air yang digunakan sebaiknya air suling, karena jika air sadah umumnya mengandung kadar ion kalsium dan magnesium yang tinggi. Faktor tumbuh ialah komponen selular esensial yang tidak dapat disintesis sendiri oleh suatu mikroorganisme dari sumber dasar karbon dan nitrogennya. Berdasarkan konsistensinya, medium dibedakan menjadi medium cair, medium padat, dan medium setengah padat. Medium cair, seperti kaldu nutrien atau kaldu glukosa, digunakan untuk perbiakan organisme dalam jumlah besar, penelaahan fermentasi dan berbagai macam uji. Medium padat, ditambahkan bahan pematid ke dalam medium kaldu, biasanya digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni dan mengisolasi biakan murni. Medium setengah padat, mengandung gelatin atau agar-agar dalam konsentrasi lebih kecil dari pada medium padat, digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Hadioetomo 1985).

H. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu proses dimana bahan atau peralatan yang digunakan di dalam bidang mikrobiologi, harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan mengganggu kehidupan dan proses yang sedang

dikerjakan (Suriawiria 1986). Sterilisasi didefinisikan sebagai proses dimana semua mikroorganisme hidup, termasuk spora bakteri dibunuh. Sterilisasi dapat dilakukan dengan cara fisik, kimia dan sarana fisokimia. Metode fisika menggunakan cahaya matahari, pemanasan, vibrasi, radiasi, dan filtrasi. Metode kimia yaitu berbahan cair (alkohol, aldehyd, fenol, halogen, serta logam berat) dan gas (formaldehid dan etilen oksida). Metode fisokimia merupakan penggabungan baik metode fisika dan kimia. Penggunaan steamformaldehid adalah metode sterilisasi fisokimia (Rao 2008).

I. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1. Morfologi dan Identifikasi

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

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

S. aureus ATCC 25923 dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitasnya proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *S. aureus* ATCC 25923 relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk penisilinase (beta-laktamase), suatu enzim yang merusak penisilin

dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resisten terhadap antibiotika lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin.

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

2. Sistematika *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Menurut G.M. Garrity, et al. (2007) sistematika ilmiah dari bakteri *S. aureus* ATCC 25923 adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Class : Bacili
 Ordo : Bacillales
 Famili : Stahpyloccaceae
 Genus : Stahpylococcus
 Species : *S. aureus* Linnaeus

3. Pathogenesis

S. aureus ATCC 25923 merupakan penyebab infeksi yang bersifat piogenik (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk kedalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat atau luka-luka kecil. *S. aureus* ATCC 25923 patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *S. aureus* ATCC 25923 dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Penanahan yang bersifat menahun dan timbul

radang yang disebut osteomyelitis. Peluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 1995).

S. aureus ATCC 25923 terdapat di hidung pada 20-50% manusia. Kapasitas patogenik suatu galur *S. aureus* ATCC 25923 adalah efek kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. *S. aureus* ATCC 25923 yang invatif dan patogenik menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat homolitik. Sekitar 50% galur *S. aureus* ATCC 25923 dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1, enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap keajaiban enzim usus (Jawetz et al. 2012).

J. Amoksisilin

Amoksisilin merupakan penisilin semisintetik yang rentan terhadap penisilinase dan secara kimia serta farmakologis berhubungan dengan ampisilin. Antibiotik golongan penisilin bekerja dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroorganisme.

Amoksisilin merupakan antibiotik golongan penisilin berspektrum luas. Antibiotik ini stabil dalam suasana asam dan dirancang untuk penggunaan oral. Absorpsi amoksisilin dari gastrointestinal lebih cepat dan lebih sempurna dari pada ampisilin, karena absorpsi amoksisilin tidak tergantung dengan adanya makanan dalam lambung. Spektrum antimikroba amoksisilin pada dasarnya sama dengan ampisilin, tetapi amoksisilin tampaknya tidak begitu efektif untuk shigelosis dibandingkan ampisilin (Goodman & Gilman 2007).

K. Landasan Teori

Sebagian besar masyarakat Indonesia masih menggunakan bahan-bahan alami untuk keperluan sehari-hari maupun dalam bidang kesehatan. Salah satunya tanaman sirsak yang biasanya digunakan untuk mengobati diare. Penggunaan daun sirsak secara empiris di masyarakat yaitu dengan cara direbus, baik daun yang masih segar maupun yang sudah dikeringkan terlebih dahulu.

Beberapa penelitian telah membuktikan khasiat dari tanaman sirsak. Pathak et al. (2010) melaporkan bahwa ekstrak air dan metanol daun sirsak mengandung senyawa tanin, steroid, dan glikosida yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. Aureus*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis* dan *Enterobacter aerogenes*. Sari et al. (2010) melakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari infusa daun sirsak dengan metode kromatografi lapis tipis menemukan senyawa flavonoid, polifenol, dan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC dan *E. coli*.

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun sirsak dapat berperan sebagai antibakteri. Saponin merupakan senyawa yang diduga sebagai senyawa antibakteri karena memiliki kemampuan dalam menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel rusak atau hancur (Ayuningtyas 2008). Menurut Juliantina dkk. (2008) alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri spektrum luas, antiradikal, antioksidan, antiplasmodial, antikanker, dan antimutagenik. Minyak atsiri menyebabkan terjadinya lisis pada bakteri (Harbone 1998). Flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan merusak lipid pada membran plasma sehingga isi sel keluar (Pratiwi 2008), sedangkan tanin yang mengkerutkan dinding sel bakteri. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, etil asetat, dan air. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut serta mampu menghambat kerja enzim. Etanol 96% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Ajizah 2004; Juliantina dkk.,2008).

Pelarut *n*-heksana merupakan pelarut non polar berupa cairan yang jernih, mempunyai sifat larut dalam 15 bagian air. *n*-heksana dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak dapat larut dalam air, larut dalam etanol, mutlak tidak bercampur dengan benzen, kloroform, eter dan dengan sebagian besar senyawa minyak atsiri, lemak, asam lemak tinggi, golongan triterpenoid dan steroid (Robinson 1995). Etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik

senyawa aglikon maupun glikon flavonoid dan senyawa semi polar lainnya, yaitu alkaloid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid. (Putri dkk.2013). Air dapat melarutkan garam, alkaloid, tannin, gula, gom, pati, protein, lender, enzim, zat warna, dan asam organik. (Depkes 1986) Saponin sangat larut dalam air dingin maupun panas. (Chapagain, 2005;L.Heng, 2005). Ketiga fraksi tersebut dapat menarik senyawa-senyawa yang padasifat masing-masing pelarut etil asetat dapat menyari lebih banyak komponen senyawa antibakteri lebih optimal dibandingkan dengan eter dan air.

Hasil penelitian menunjukkan adanya daya hambat dari ekstrak daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923, setelah proses inkubasi pada suhu 37°C pada inkubator selama 24 jam, diameter zona hambat ekstrak daun sirsak pada masing-masing peluang ialah 12,6 mm, 12 mm, 14,1 mm, dan memiliki daya hambat yang kuat. 10,5 mm, 9,4 mm, memiliki daya hambat yang sedang hal ini disebabkan karena jumlah ekstrak yang diserap kertas saring berbeda, perbedaan waktu pada saat perendaman kertas saring pada kelompok intervensi dan jumlah *S. aureus* ATCC 25923 yang tersebar pada saat pembiakan di media Muller-Hilton Agar tidak merata di tiap bagian. Penilaian zona hambat dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout yaitu menunjukkan bahwa efek antibakteri dari ekstrak daun sirsak memiliki daya hambat yang kuat karena memiliki diameter zona hambat dengan rata-rata 2,3 mm. Zona hambat yang terbentuk disebabkan adanya zat-zat aktif yang terkandung dalam daun sirsak seperti tannin, alkaloid, saponin, dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri (Melisa 2015).

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian sebelumnya tentang bioaktivitas ekstrak metanol daun muda sirsak sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *Propionibacterium acnes* yang dilakukan oleh Ika Rusmiyati. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan adanya kemampuan daun sirsak untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. acnes*.

L. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dalam penelitian ini, ditarik hipotesis antara lain:

Pertama, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun sirsak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kedua, konsentrasi hambat minumun (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air daun sirsak (*A. muricata* L) sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dapat ditentukan..

Ketiga, dari ketiga fraksi daun sirsak yang memiliki aktivitas paling optimal dalam menghambat *S. aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*A. muricata* L) yang diambil dari Karanganyar-Jawa tengah pada bulan maret 2017.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*A. muricata* L), daun yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua, yang kemudian dikeringkan serta dibuat serbuk.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang membuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama penelitian ini adalah fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun sirsak.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksan, etil asetat, air dari ekstrak etanol daun sirsak (*A. muricata* L) terhadap *S. Aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai konsentrasi fraksi yang digunakan sebagai uji antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Variabel terkendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisis atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil

yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923, kondisi laboratorium (meliputi kondisi inkas, alat, serta bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen, pemilihan daun, dan metode ekstraksi.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 di media uji, yang dipengaruhi oleh fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol 96% daun sirih.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sirih adalah daun yang utuh, berwarna hijau tua yang diambil dari daerah Karanganyar- Jawa tengah.

Kedua, serbuk daun sirih (*A. muricata* L) adalah daun sirih yang dikeringkan dalam alat pengeringan (oven) pada suhu 50°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol adalah hasil ekstraksi dari daun sirih (*A. muricata* L) yang dibuat dengan cara mengekstrak serbuk daun sirih dengan metode maserasi yang menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 7,5 yang direndam selama 5 hari dan sesekali digojog kemudian dipekatkan sampai bebas etanol.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah hasil fraksi dari ekstrak etanol 96% daun sirih yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan sebagai pelarut non polar sehingga didapat fraksi *n*-heksan.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi *n*-heksan dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi polar sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi etil asetat daun sirih dengan pelarut air sehingga didapat fraksi air.

Ketujuh, bakteri dalam uji penelitian ini adalah bakteri *S. aureus* ATCC 25923 yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Kedelapan, metode dilusi adalah metode uji aktivitas antibakteri dengan membuat satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,009%. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri setelah diinokulasi pada media. Prinsip Penentuan KHM yaitu dilakukan pengenceran pada senyawa antibakteri hingga diperoleh berbagai konsentrasi. Pengenceran dilakukan bertujuan untuk membuat seri pengenceran ekstrak daun sirsak sehingga diperoleh hingga konsentrasi yang terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji (Anugrahini, 2014)

Kesembilan, prinsip metode difusi adalah untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba permukaan media agar. Konsentrasi Hambat Minimum adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

1.1. Alat untuk pembuatan serbuk simplisia. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, oven, alat penyerbuk, ayakan, *moisture balance*, mikropipet, evaporator. Alat perkolasi meliputi corong, erlemeyer, botol cairan penyari, kertas saring dan aluminium voil. Alat gelas lain yang digunakan seperti gelas ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, dan cawan penguap,

1.2. Alat perkolasi. Alat yang digunakan untuk perkolasi adalah perkolator

1.3. Alat uji aktivitas antibakteri. Cawan petri, jarum ose, lampu spritus, autoklaf, inkubator, inkas, tabung reaksi, spuit injeksi, kertas saring, kertas lakmus, dan corong kaca.

2. Bahan

2.1 Bahan utama. Bahan utama yang digunakan adalah serbuk daun sirsak (*A. muricata* L) yang diambil dari Karanganyar-Jawa Tengah.

2.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan untuk penyarian dalam etanol 96%, etil asetat, *n*-heksana, dan air.

D. Jalannya penelitian

1. Determinasi dan identifikasi tanaman

1.1. Determinasi tanaman. Tahap pertama dalam penelitian ini adalah determinasi tanaman yaitu menetapkan kebenaran sampel daun sirsak berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada daun sirsak terhadap kepustakaan dan dilakukan di Laboratorium Biologi farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

1.2. Deskripsi tanaman. Sirsak merupakan tanaman dengan tinggi pohon sekitar 3-8 meter. Batang bulat, berkayu dan percabangan monopodial. Mempunyai daun bangun bulat memanjang, ujung meruncing pendek, pangkal runcing, tepi rata, dan tulang daun menyirip. Bunga tunggal, beraturan, berhadapan dengan daun. Daun kelopak dan daun mahkota terluar pada kuncup tersusun seperti katup, daun mahkota terdalam seperti genting. Dasar bunga sangat cekung. Benang sari banyak. Penghubung ruang sari di atas ruang sari melebar, menutup ruangnya. Bakal buah banyak, dan bakal biji satu. Buahnya majemuk tak beraturan, berduri tempel, bentuk telur miring atau bengkok, hijau tuadan daging buah putih.

2. Pembuatan serbuk daun sirsak

Daun sirsak dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu. Daun sirsak dikeringkan kemudian ditimbang, setelah itu daun sirsak yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak

dengan ayakan nomor 40, sehingga diperoleh serbuk daun sirsak yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Penyerbukan bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak

Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dilakukan dengan menggunakan *moisture balance* yang dilakukan dengan menekan tombol off untuk menghidupkan, lalu menekan tombol thermometer untuk mengatur suhu 105°C kemudian dimasukan 2,0 gram serbuk dalam neraca timbang berlapis alumunium foil yang telah ditara dengan menekan (T) untuk posisi 0,00 dan diaktifkan, lalu tunggu hingga layar menunjukkan angka penurunan berat sampel hingga alat dengan sendirinya berbunyi dan tekan (%) untuk mengetahui presentasi kadar air yang terukur (Agoes, 2012).

4. Pembuatan ekstrak perkolasi daun sirsak (*Annona muricata.L*)

Serbuk daun sirsak sebanyak 500 gram, kemudian serbuk dibasahi dengan etanol 96% dengan perbandingan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dengan 2,5 bagian penyari sampai terbasahi semua. Kemudian dimasukan kedalam bejana tertutup sekurang-kurangnya selama 1 jam, dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil sesekali ditekan hati-hati, dituangi dengan pelarut secukupnya sampai cairan mulai menetes dan diatas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari. Perkolator ditutup dan dibiarkan menetes dengan kecepatan 1 tetes per 3 detik selama 24 jam. Kran dibuka dan dibiarkan cairan penyari menetes berulang-ulang sehingga selalu terdapat lapisan cairan penyari diatas simplisia. Perkolasi dihentikan setelah cairan tidak berwarna mulai menetes. Hasil perkolasi ditampung dan diuapkan di evaporator pada suhu 40-50°C.

5. Tes bebas etanol ekstrak daun sirsak (*Annona muricata.L*)

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat pekat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif etanol ditandai dengan tidak terbentuk bau ester yang khas

dari etanol. Tujuan dilakukannya tes bebas etanol ini agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri.

6. Pengujian kandungan kimia fraksi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata.L*)

Identifikasi kandungan kimia dilakukan terhadap senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin. Identifikasi senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin dibuktikan di laboratorium fitokimia Universitas Setia Budi.

6.1. Identifikasi flavonoid. Sebanyak 2 mg fraksi daun sirsak ditambah 5 ml aquadest dipanaskan selama satu menit, disaring dan diambil filtratnya. filtrat ditambah 0,1 g serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol 95% : asam klorida (1 : 1) dan pelarut amil alkohol. Campuran ini dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah, kuning, jingga pada amil alkohol (Anonim 1989).

6.2. Identifikasi alkaloid. Fraksi teraktif ekstrak daun sirsak ditambahkan dengan sedikit larutan HCL 2 N, panaskan kemudian ditambahkan larutan mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan *dragendorf* terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes 1977).

6.3. Identifikasi saponin. Sepuluh mililiter air panas dalam tabung reaksi didinginkan kemudian ditambah 0,5 g fraksi daun sirsak dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Anonim,1995).

7. Fraksinasi

Fraksinasi dari ekstrak daun sirsak dibuat dengan menimbang ekstrak kental hasil perkolasi di dalam beaker glass sebanyak 20 g. Ekstrak yang sudah ditimbang ditambah air sebanyak 75 ml kemudian dilakukan ekstraksi cair-cair dengan n-heksan sebanyak 3 kali dengan masing-masing 75 ml n-heksan, lalu n-heksan dipisahkan dari air. Air lalu dilakukan ekstraksi cair-cair dengan etil asetat sebanyak 3 kali masing-masing dengan 75 ml. Hasil fraksinasi yaitu fraksi n-

heksan, fraksi etil dan air yang diperoleh dikeringkan dengan penangas air lalu ditimbang.

8. Pembuatan suspensi bakteri uji.

S. aureus ATCC 25923 diambil 1-2 ose dalam biakan murni pada media VJA, kemudian dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 5-10 ml BHI yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5. Apabila kekeruhannya belum sama, maka diinkubasi pada suhu 37°C. Hingga kekeruhannya sesuai dengan Mc farland $0,5 = 1,5 \times 10^8$ cfu/ml (Bonang dan Koeswandoro,1982).

9. Identifikasi bakteri uji

9.1. Identifikasi morfologi. Suspensi bakteri diinokulasi pada medium VJA yang sudah ditambahkan kalium tellurite 3%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni kuning.

9.2. Pewarnaan. Pewarnaan Gram *S. aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (metanol : aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup).

9.3. Uji katalase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrien cair dengan penambahan 2 tetes hydrogen peroksida 3% (Jawetz dkk., 2001)

9.4. Uji koagulase. Uji koagulase dapat menggunakan plasma darah kelinci dan diberi asam sitrat yang telah diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, diamati adanya penggumpalan setelah 4 jam atau lebih (Jawetz dkk., 2001)

10. Pengujian antibakteri daun sirsak secara difusi

Fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air yang diperoleh dari ekstrak etanol daun sirsak secara perkolasi diuji secara mikrobiologi terhadap *S. aureus* ATCC 25923, menggunakan metode difusi. Pertama-tama kapas lidi steril dicelupkan pada suspensi yang telah dibuat dan diinkubasi pada MHA dengan metode perataan dan medium didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke

media. Pada media tersebut dibuat 6 sumuran dengan menggunakan boor drop dengan jarak yang sama. Satu sumur untuk blanko dan sumuran yang lain diisi ekstrak yang diuji dengan konsentrasi 50%, menggunakan kontrol positif adalah antibiotik dan kontrol negatif adalah DMSO 1%. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Pengukuran zona hambat yang ada disekitar sumuran dinyatakan dalam satuan mm (Bonang dan Koeswandono 1892).

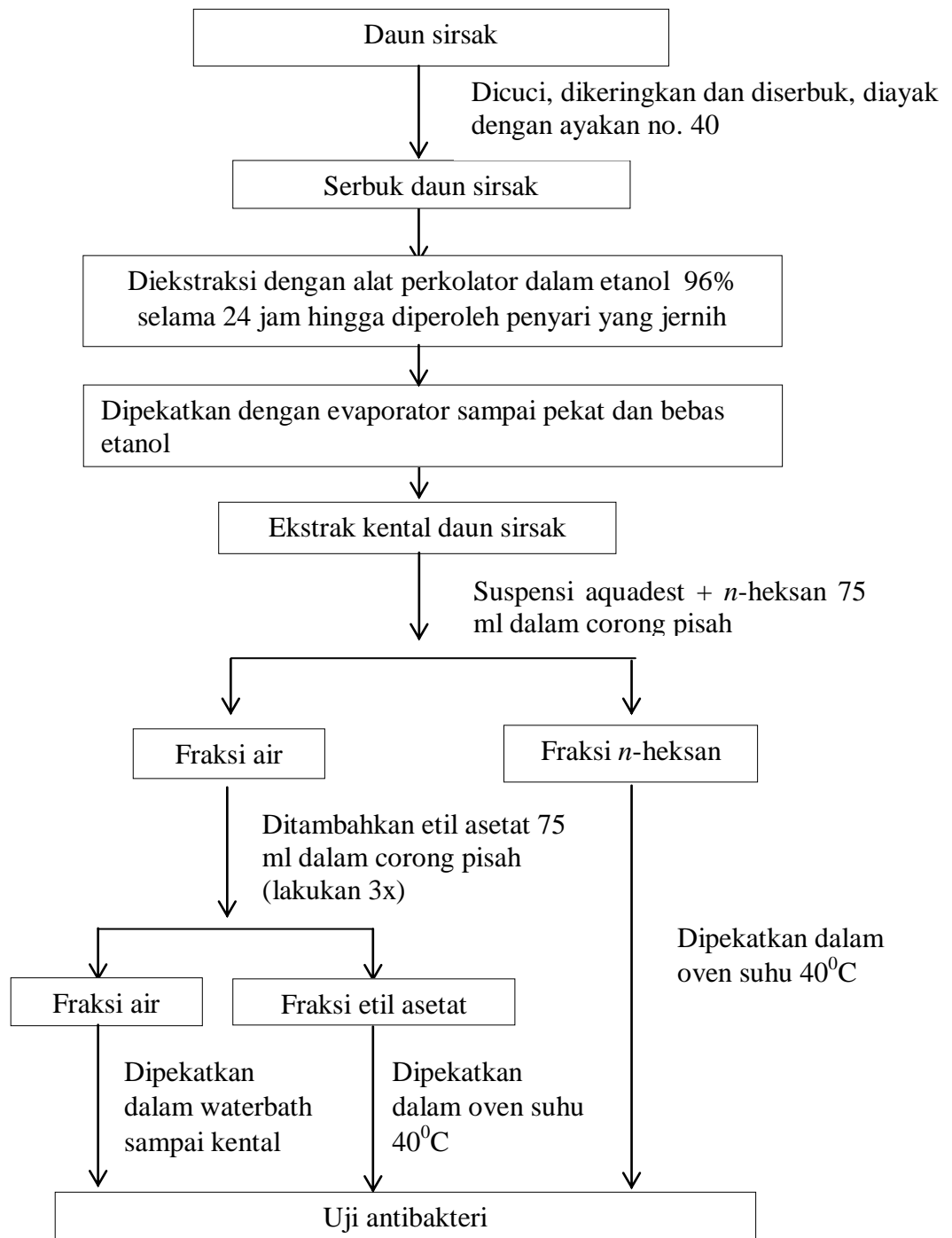
11. Pengujian antibakteri daun sirsak secara dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis.

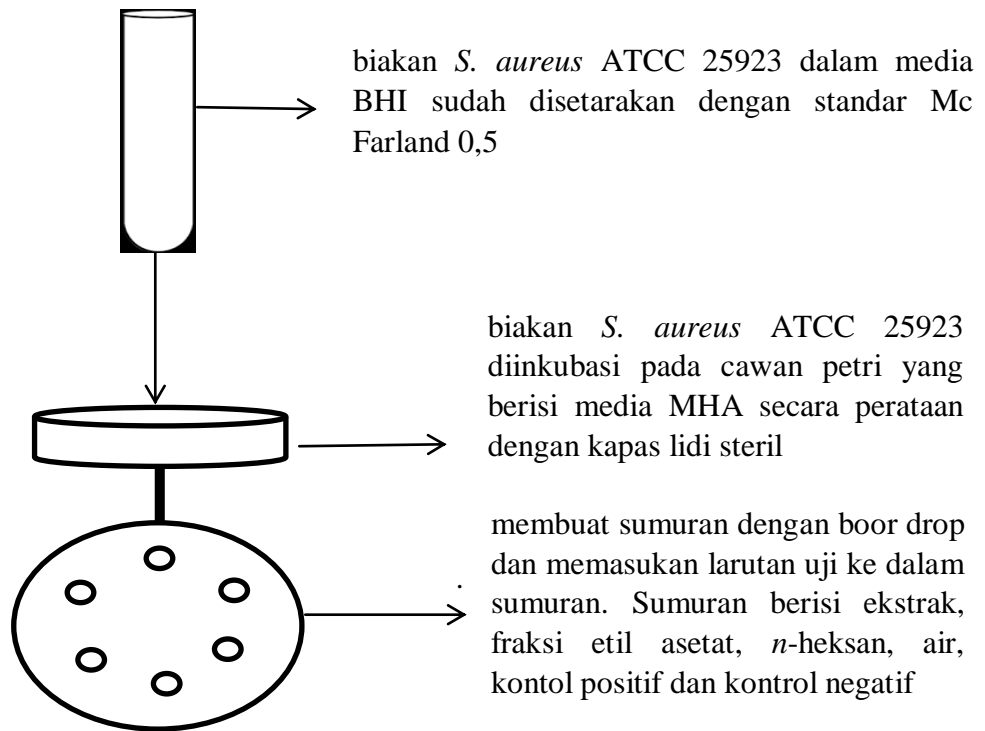
Metode dilusi dilakukan dengan memasukkan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol positif dan tabung sebagai kontrol negatif. Pembuatan larutan stok menggunakan fraksi teraktif. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Medium BHI dimasukan ke dalam masing-masing tabung uji secara aseptis, tabung pertama ditambahkan 0,5 ml, dimasukan ke dalam tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 ml dimasukan kedalam tabung ketiga dan begitu seterusnya sampai tabung kesepuluh. Suspensi bakteri dalam medium BHI dimasukan ke dalam tiap tabung uji sebanyak 0,5 ml. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam, lalu diamati kekeruhannya. KHM ditentukan dengan cara cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Mengamati ada atau tidaknya koloni warna hitam dan di sekitar koloni berwarna kuning pada permukaan media lempeng. KBM ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media VJA yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh. Pengujian dilakukan 3 kali replikasi.

12. Analisis hasil

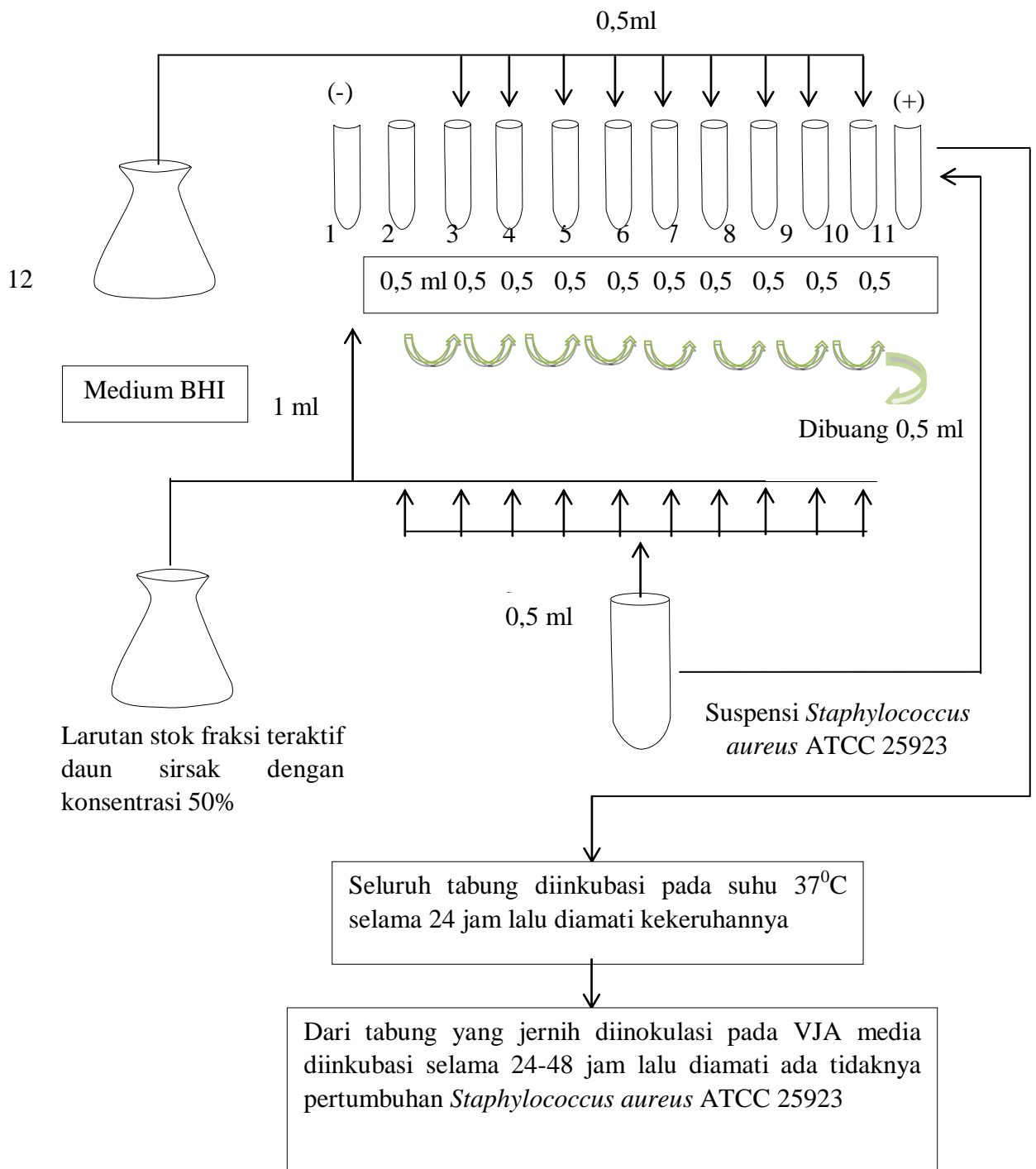
Hasil penelitian dianalisis berdasarkan pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada tabung reaksi di media selektif KHM dengan melihat kekeruhan pada tabung reaksi seri dilusi. Kemudian dianalisis menggunakan statistik anova satu jalan



Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi pada daun sirsak (*A. muricata* L)



Gambar 2. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak daun sirsak terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi.



Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak daun murbei terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi dan identifikasi tanaman sirsak (*Annona muricata* L.)

Identifikasi tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan dilaboratorium morfologi sistematik tumbuhan Universitas Setia Budi, Surakarta.

Hasil identifikasi yang telah dilakukan dapat diketahui tanaman yang dipakai untuk penelitian ini benar berjenis *Annona muricata* L. Keterangan identifikasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pembuatan serbuk daun sirsak

2.1 Pengumpulan bahan. Daun sirsak yang digunakan, diambil dan dikumpulkan dari Karanganyar-Jawa Tengah pada bulan maret 2017. Daun sirsak dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan debu dan kotoran yang menempel.

2.2 Pengeringan daun sirsak. Penimbangan daun sirsak basah dilakukan sampai bobot tetap. Daun sirsak kemudian dikeringkan dan ditimbang kembali. Dihitung bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak. dapat dilihat di tabel 1. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah pada lampiran 11.

Tabel 1. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak

No	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Presentase (%)
1	5600	2100	37,5

Bobot basah daun sirsak 5600 gram setelah dikeringkan di oven diperoleh bobot kering serbuk daun sirsak 2100 gram, diperoleh presentase 37,5% dapat dilihat pada lampiran 11.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak

Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat dihitung berdasarkan alat *moisture balance*. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan menggunakan alat *moisture balance*

No	Bobot awal (g)	Bobot akhir(g)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,83	7,3%
2	2,00	1,87	6,5%
3	2,00	1,81	8,0%
Rata-rata			7,3%

Berdasarkan tabel 2 hasil hasil perhitungan susut daun sirsak yang dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan rata-rata presentase susut perhitungan 7,3% Penetapan susut pengeringan tidak boleh lebih dari 10% dapat mencegah pertumbuhan kapang dan aktivitas enzim sehingga bahan lebih awet dan kandungan zat aktifnya tidak berkurang (Katno *et al.* 2008). Berdasarkan dari penetapan susut pengeringan, dapat dikatakan serbuk daun sirsak ini memenuhi syarat karena presentase susut pengeringan daun sirsak kurang dari 10%. Rata-rata penetapan susut pengeringan daun sirsak dapat dilihat pada lampiran 12.

4. Hasil pembuatan ekstrak perkolasi daun sirsak

Hasil pembuatan ekstrak daun sirsak dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak perkolasi

Berat serbuk (g)	Berat gelas kosong (g)	Berat gelas + ekstrak (g)	Ekstrak (g)
500	148,20	412,43	264,05

Berdasarkan tabel 3, pembuatan ekstrak perkolasi daun sirsak dengan berat serbuk sebanyak 500 gram menghasilkan ekstrak pekat sebanyak 264,05 gram. Penyarian ekstrak daun sirsak dalam penelitian ini menggunakan metode perkolasi. Metode perkolasi lebih efektif karena aliran dalam cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dari konsentrasi yang tinggi ke konsentrasi yang lebih rendah sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.

5. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun sirsak

Ekstrak daun sirsak dilakukan tes esterifikasi etanol. Hasil esterifikasi etanol dalam ekstrak daun sirsak dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil bebas tes etanol ekstrak daun sirsak

Prosedur	Hasil	Pustaka
Ekstrak + H ₂ SO ₄ + CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas etanol	Tidak tercium bau ester yang khas etanol

Hasil tes bebas etanol pada tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak sudah terbebas dari pelarutnya yaitu etanol yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas etanol. Uji bebas etanol bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri, sehingga tidak mengganggu aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirsak.

6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirsak

Hasil identifikasi secara kualitatif dengan reaksi warna terhadap kandungan kimia alkaloid, flavonoid dan saponin terhadap ekstrak daun sirsak dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun sirsak

Kandungan kimia	Pustaka	Hasil dan interpretasi data Ekstrak
Flavonoid	Warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Robinson 1995)	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol (+)
Alkaloid	Dragondrof: terbentuk endapan jingga kecoklatan (Depkes 1989).	Dragondrof: terbentuk endapan jingga kecoklatan (+).
Saponin	Terbentuk buih tetap selama kurang dari 10 menit (Depkes 1989)	Tebentuk buih tetap (+)

Keterangan : (+) = mengandung golongan senyawa
(-) = tidak mengandung golongan senyawa

Hasil tabel 5 menunjukkan identifikasi kandungan kimia terhadap serbuk dan ekstrak daun sirsak dengan menggunakan tabung reaksi dapat dilihat pada lampiran 7. Hasil penelitian mengenai kandungan kimia dalam serbuk dan ekstrak daun sirsak perkolasi daun sirsak telah sesuai dengan pustaka, sehingga dapat dikatakan bahwa serbuk dan ekstrak perkolasi daun sirsak mengandung flavonoid, alkaloid, dan saponin.

7. Fraksinasi dan identifikasi kandungan kimia fraksi daun sirsak

Ekstrak yang telah didapat dari metode perkolasi kemudian difraksinasi menggunakan 3 pelarut berdasarkan polaritas, pelarut non polar yang digunakan adalah *n*-heksan, pelarut semi polar eril asetat dan sebagai pelarut polar adalah air untuk dilakukan fraksinasi.

7.1 Hasil fraksi *n*-heksan. Organoleptis fraksi *n*-heksan coklat kehijauan, konsisten kental, tidak berbau. Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksinasi fraksi *n*-heksan daun sirsak didapat prosentase rata-rata yaitu 17,17%. Memiliki prosentase kecil disebabkan senyawa yang bersifat non polar pada simplisia sedikit sehingga berat fraksi *n*-heksan kecil. hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 13. Rendemen hasil fraksi *n*-heksan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksan

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen fraksi <i>n</i> -heksan % (b/b)
10,09	1,18	11,69
10,02	2,00	19,96
10,01	1,99	19,88
Rata-rata		17,17%

7.2 Hasil fraksi etil asetat. Organoleptis fraksi etil asetat warna coklat tua, konsistensi kental, tidak berbau. Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksi etil asetat daun sirsak dapat prosentase rata-rata 23,09% memiliki prosentase rendemen lebih besar dibandingkan *n*-heksan disebabkan senyawa yang bersifat semi polar lebih banyak dari pada senyawa non polar. Perhitungan rendemen daun sirsak dapat dilihat pada lampiran 13.

Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi etil asetat

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen fraksi <i>n</i> -heksan % (b/b)
10,09	2,59	25,66
10,02	2,03	20,25
10,01	2,34	23,37
Rata-rata		23,09 %

7.3 Hasil fraksi air. Organoleptis fraksi air warna coklat tua, konsistensi kental, tidak berbau. Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksinasi fraksi air daun sirsak didapatkan prosentase rata-rata yaitu 56,67%. Memiliki prosentase rendemen paling besar dibandingkan fraksi *n*-heksan maupun etil asetat karena senyawa polar yang terdapat pada daun

sirsak lebih banyak dibandingkan senyawa non polar maupun semi polar, sehingga berat fraksi air paling maksimal. Hasil perhitungan selengkapnya, dapat dilihat pada lampiran 13

Tabel 8. Rendemen hasil fraksinasi air

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen fraksi <i>n</i> -heksan % (b/b)
10,09	5,51	54,60
10,02	5,74	57,28
10,01	5,22	52,14
Rata-rata		56,67%

7.4 Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi daun sirsak

Kandungan Kimia	Pustaka	Hasil dan Interpretasi data		
		<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Flavonoid	Warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alcohol (Robinon 1995).	Tidak terbentuk warna kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (-)	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol. (+)	tidak terbentuk warna kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (-)
Alkaloid	Dragondrof: terbentuk endapan jingga kecoklatan (Depkes 1989).	Dragondrof: tidak ada endapan (-)	Dragondrof: endapan orange (+)	Dragondrof :Berwarna hitam dan tidak ada endapan (-)
Saponin	Terbentuk buih tetap selama kurang dari 10 menit (Depkes 1989)	Tidak ada buih yang terbentuk (-)	Tidak ada buih yang terbentuk. (-)	Ada buih yang terbentuk (-)

8. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 biakan murni digoreskan pada medium VJA yang sudah ditambah kalium telurit 1% kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Berdasarkan pengamatan, koloni yang dihasilkan berwarna hitam dan warna medium disekitar koloni berwarna kuning yang menunjukkan terjadinya fermentasi manitol

Staphylococcus aureus ATCC 25923 mereduksi telurit 1% menjadi metalik tellurium yang menyebabkan pertumbuhan koloni berwarna hitam.

Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan hasil Gram positif ini ditandai dengan terbentuknya warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol membentuk beberapa kelompok tersendiri dalam jumlah banyak seperti buah anggur. Uji identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram menunjukkan hasil koloni berbentuk bulat, bergerogol, dan berwarna ungu. Tujuan pengecatan Gram adalah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel bakteri. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dan Gram negatif mengandung lemak dan prevalensi lebih tinggi dan dinding selnya tipis. Pemberian kristal violet pada bakteri Gram positif akan meninggalkan warna ungu kemudian diberi larutan iodin sehingga akan terbentuk suatu kompleks antara kristal violet dan iodin. Pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel gram negatif. Pewarnaan safranin masuk kedalam sel dan menyebabkan sel menjadi warna merah pada bakteri Gram negatif, sedangkan pada bakteri Gram positif dinding selnya terdehidrasi dengan pelakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelcsar & Chan 1896). Foto hasil pengecatan Gram terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 8 gambar identifikasi mikroskopis.

Uji biokimia meliputi uji katalase dan koagulase dapat dilihat pada tabel 9. Uji katalase akan menunjukkan hasil positif dengan menunjukkan adanya buih dan gelembung sesaat sesudah koloni ditetesi H_2O_2 . Hal ini disebabkan karena bakteri mempunyai enzim katalase yang apabila ditambah dengan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2O dan O_2 dan hal tersebut ditandai dengan adanya gelembung udara. Uji ini digunakan untuk membedakan spesies *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya (Jawets *et al.* 2001). Hasil positif pada uji koagulase yaitu akan terjadi pengumpalan plasma serta dapat dilihat secara kasat mata dengan

adanya plak pada dinding tabung (Warsa1993). Hasil foto identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 8 gambar identifikasi katalase dan koagulase.

Tabel 9. Hasil identifikasi bakteri dengan uji katalase dan koagulase

Jenis uji	Hasil	Pustaka	Keterangan
Uji katalase	Terbentuk	Terbentuk	(+)
	Gelebung gas	gelebung gas	
Uji koagulase	Hasil reaksi	Hasil reasi	(+)
	Positif terjadi	positif terjadi	
	Penjadalan	penjadalan	

Keterangan : (+) =Positif *Staphylococcus aureus*
 (+)=Negatif *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan semua hasil identifikasi dapat disimpulkan bahwa bakteri yang digunakan benar-benar *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

9. Pembuatan suspensi bakteri uji

Suspensi bakteri yang kekeruhan yang disamakan dengan kekeruhan 0,5 Mc Farland yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 untuk metode dilusi bakteri biakan diambil dengan perbandingan 1:1000 pada media BHI (Bonang & Koeswardono 1982). Standar ini dapat digunakan sebagai standar untuk menentukan perkiraan konsentrasi sel pada suspensi atau larutan

10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi.

Pengujian aktivitas dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi yaitu dengan mengetahui hambatan pertumbuhan dari biakan bakteri uji. Hasil fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun sirsak dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 untuk mengetahui fraksi yang paling aktif. Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi ekstrak daun sirsak dilakukan pada bakteri uji dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan perbandingan kontrol positif Amoksisilin, kontrol negatif DMSO 1%. Pembuatan suspensi bakteri uji disesuaikan dengan kekeruhan modifikasi standar Mc Farland, masa inkubasi 24 jam pada suhu 37°C, ada tidaknya daya hambat yang teramati dalam ukuran mm.

Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar sumuran yang menandakan bahwa kandungan ekstrak daun sirsak memiliki daya hambat terhadap bakteri uji.

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air terhadap bakteri uji menunjukkan daya hambat, ini dibuktikan dengan adanya daerah jernih disekitar sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 10. Diameter hambat uji aktivitas secara difusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Sampel uji	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Fraksi <i>n</i> -heksan	50%	16	15	14	15,00±1,00
	25%	15	14	13	14,00±1,00
	12,5%	14	14	13	13,66±0,57
Fraksi etil asetat	50%	18	18	17	17,66±0,57
	25%	17	17	17	17,00±0
	12,5%	17	16	17	16,66±0,57
Fraksi air	50%	11	10	11	10,66±0,57
	25%	10	9	9	9,33±0,57
	12,5%	9	9	9	9,00±0
Ekstrak etanol	50%	8	8	8	8,00±0
	25%	8	9	9	8,66 ±0,57
	12,5%	8	8	9	8,33±0,57
Kontrol (+)		29	27	27	27,66±1,15
Kontrol (-)		0	0	0	-

Daerah zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada fraksi *n*-heksan konsentrasi 50% adalah 15 mm, fraksi etil asetat adalah 17,7 mm, fraksi air adalah 10,7 mm. Rata-rata zona hambat fraksi *n*-heksan konsentrasi 25% adalah 14 mm, fraksi etil asetat adalah 17 mm, dan fraksi air adalah 9,3 mm. Daerah zona hambat fraksi *n*-heksan pada konsentrasi 12,5% adalah 13,7 mm, fraksi etil asetat adalah 16,7 mm dan fraksi air adalah 9 mm.

Tabel 10 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat lebih efektif terhadap bakteri uji dibandingkan fraksi *n*-heksan dan air. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi ini menggunakan kontrol negatif DMSO 1% yang dalam pengujian ini tidak aktif dalam menghambat bakteri uji.

Analisis data yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik Analisis Of Varians (ANOVA) *oneway*. Anova *oneway* untuk membandingkan fraksi pada setiap konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air.

Data uji One-Sample Kolmogorov – Sminor untuk bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diperoleh signifikansi = 886 > 0,05 dan maka H_0 diterima. Berdasarkan data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan Analisis of variansi (ANOVA).

Hasil uji anova *oneway* pada tabel diameter hambat didapatkan hasil $F = 213,431$ dengan probalitas $0,000 > 0,05$ berarti keduabelas sediaan uji tersebut menunjukkan adanya perbedaan nyata pada penghambatan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan tabel *tukey test* dan dapat dijelaskan bahwa ada tanda * pada *Mean Difference*, maka perbedaan tersebut signifikan dengan maksud memiliki perbedaan diameter penghambatan aktivitas antibakteri, sedangkan tidak ada tanda * maka perbedaan signifikan dengan maksud tidak memiliki perbedaan diameter penghambatan aktivitas antibakteri.

Tabel *Homogeneous subsets* ini mencari grup/subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Terlihat ketiga belas sediaan uji terbagi dalam 6 subset. Subset 1 terdapat ekstrak etanol 50%, ekstrak etanol 25%, ekstrak etanol 12,5%, fraksi air 12,5%, fraksi air 25%. Subset 2 terdapat fraksi air 12,5%, fraksi air 25%, dan fraksi air 50. Subset 3 terdapat fraksi *n*-heksan 12,5%, fraksi *n*-heksan 25% dan fraksi *n*-heksan 50%. Subset 4 terdapat fraksi *n*-heksan 50%, fraksi etil asetat 12,5%. Subset 5 terdapat fraksi etil asetat 12,5%, fraksi etil asetat 25%, fraksi etil asetat 50%. Subset 6 terdapat amoksisilin. Terdapat dari berbagai subset diketahui bahwa subset 1-5 mempunyai daya beda nyata dalam penghambatan aktivitas antibakteri, berbeda dengan sediaan uji yang termasuk dalam satu subset dijelaskan bahwa tidak mempunyai beda nyata dalam penghambatan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada lampiran 16

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antibakteri lebih optimal dalam membunuh *Staphylococcus aureus* jika

dibandingkan dengan fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Fraksi etil asetat dengan konsentrasi 50% lebih menarik senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak yaitu flavonoid, alkaloid dan saponin.

Penelitian ekstraksi sering kali dilanjutkan dengan fraksinasi untuk memisahkan senyawa yang terkandung didalamnya, senyawa yang terkandung dalam ekstrak lebih banyak, karena ada senyawa polar dan non polar.

Fraksi etil setat memiliki zona hambat yang paling besar dibandingkan fraksi *n*-heksana dan fraksi air karena sifat etil asetat yang semi polar. Fraksi etil mengandung senyawa kimia yang lebih kompleks dibandingkan pada fraksi polar dan non polar oleh sebab itu fraksi etil asetat lebih banyak menarik senyawa antibakteri yakni flavonoid, dan alkaloid hal tersebut mengakibatkan fraksi etil asetat menjadi fraksi teraktif dengan membentuk daya hambat paling besar dibandingkan fraksi *n*-heksana dan fraksi air.

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein, menjadi tidak stabil karena struktur protein sel bakteri menjadi rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonoid, sehingga protein bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya fungsi permeabilitas sel terganggu dan sel bakteri menjadi pecah yang berakibat pada kematian sel bakteri. Flavonoid juga menyebabkan pembengkakan sel bakteri dan akhirnya membran sel menjadi pecah, pecahnya membran tersebut mengakibatkan kematian sel bakteri (Kusdarwati *et al* 2010).

Alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana 2012).

11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi

Hasil pengujian dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air daun sirsak dilakukan dengan metode dilusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air yang

digunakan adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Konsentrasi stok yang digunakan yaitu 8 gram ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dilarutkan ke dalam 10 ml aquadest steril.

Aktivitas antibakteri dapat diketahui dari kekeruhan pada tabung reaksi lalu kemudian digoreskan pada media agar, hasil menunjukkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) susah diamati karena sampel yang digunakan keruh, sehingga dilanjutkan dengan penggoresan pada media VJA. Metode dilusi bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal dari obat yang bersifat antibakterial. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada media VJA dalam cawan petri steril. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan pada medium VJA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabel 11. Hasil dilusi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
50	-	-	-
25	-	-	-
12,5	-	-	-
6,25	-	-	-
3,12	+	+	+
1,56	+	+	+
0,78	+	+	+
0,39	+	+	+
0,19	+	+	+
0,09	+	+	+
K +	+	+	+
K -	-	-	-

Keterangan

(+): ada pertumbuhan bakteri

(-) : tidak ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-): fraksi etil

Kontrol (+) : suspensi bakteri

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi yang terdiri dari 12 tabung steril dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%, kontrol (+), dan kontrol (-).

Konsentrasi larutan stok fraksi teraktif adalah memasukan 0,5 ml. Media BHI dimasukan dari tabung 3 sampai tabung 11, secara aseptik kedalam tabung 1 dimasukan 1,0 ml larutan stok, kemudian dari tabung 2 dan 3 dimasukan 0,5 ml larutan stok, dari tabung 3 dipipet 0,5 ml dan dimasukan kedalam tabung 4 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Tabung 12 sebagai kontrol positif yang hanya berisi suspensi bakteri. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, lalu diamati kekeruhannya. KBM ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada permukaan media selektif. KBM ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media VJA yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh (Bonang dan Koeswardono 1982)

Dari data dilusi bakteri *S. aureus*, maka didapatkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) *S. aureus* adalah 6,25% karena dari subkultur media VJA pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% tidak ditumbuhi oleh bakteri *S. aureus* dengan warna bakteri kehitaman dan pada konsentrasi tersebut efektif untuk membunuh bakteri *S. aureus*. Hasil dilusi bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Lampiran 10.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan , etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona Muricata* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona Muricata* L) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 50% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 17,6 mm.

Kedua, fraksi etil asetat merupakan fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 6,25%.

B. Saran

Pertama perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun daun sirsak (*Annona Muricata* L) secara *in vivo*.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun daun sirsak (*Annona Muricata* L) dengan menggunakan pelarut dan metode yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes A. 2010. *Tanaman obat Indonesia. Buku 1*. Jakarta : Penerbit Salemba Medika hlm 73-75.
- Anonim, 1979, *farmakope Indonesia*. Ed ke -3. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 8, 33.
- [Anonim]. 1986. *Sediaan gelanik* . Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim, 1986. *Sedian gelatik*. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan obat dan Makanan. Hlm 1-17.
- Anonim. 1995. *Sediaan Galenika*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm.2-7,51.
- Anugrahini, A. 2004. Sensivitas *salmonella thypimurium* terhadap ekstrak daun *psidium guajava* L. J. Bioscientiae. 1(1):31-38. Ayuningtyas A.K., 2008. *Efektivitas campuran meniran phyllanthus niruri dan bawang putih allium sativum untuk pengendalian infeksi bakteri aeromonas hydrophila pada ikan lele dumbo clarias gariepenus*. Skripsi. Prodi teknologi dan manajemen akuakultur institut pertanian Bogor. Bogor.
- Bonang G, Koeswardono E.S. 1982. *Mikrobiologi kedokteran untuk laboratorium dan klinik*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Indonesia Atmajaya. Hlm 9.
- Depkes, 1977, *materia medika Indonesia*, Jilid I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.1985. *cara pembuatan simplisia*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan Republik Indonesia].2008. *pengolahan pasca panen tanaman obat*. Balai penelitian pengembangan tanamana obat dan obat tradisional. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- De Sousa OV,GD Vieira,RG de jesus,J de pinho,CH Yamamoto,MS Alves. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of *annona muricata* L. Leaves in animal models. Int J Mol Sci.2010;11(5);2067-78.
- Ditjen POM. 1986. *Sediaan Galenik*. Jilid II. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Halaman 19 - 22.

- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 3-5, 10-11.
- Ganiswara . 2007. *Farmakologi dan terapi*. Edisi V. Jakarta: Gaya baru . hlm 585-598.
- Garrity , G.M., Lilburn, J.R. Cole, S.H. Harrison, J. Euzeby, and B.J. Tindall. 2007. *Taxonomic outline of the bacteria and archaea*, Release 7.7. Michigan:Michigan state university board of trustees. P.364,464.
- Godman and Gilman. 2007. *Manual farmakologi dan terapi*. Edisi IV. Jakarta: UI press. Hlm.571-573.
- Hadioetomo, R. S. 1985. *Mikrobiologi dasar dalam praktek* . Jakarta : Gramedia.
- Harborne , J.B, 1987, *metode fitofarmaka*. Diterjemahkan oleh Kosasih padmawinata dan Iwang sudiro, ITB press, Bandung , 8-15, 76-96, 102-106, 155-156.
- Harborne JB. 1987. *Metode fitokimia*. Penerjemah; padmawinata K, Soediro I, Bandung :ITB press.hlm 102-104.
- Haro G, NP Utami, E Sitompul study of the antibacterial activities of soursop (annona muricata L.) leaves. International journal of pharmtech research. 2014;6(2);575-81.
- Jawetz, Emest, MD. PhD dkk, 1986. *Mikrobiologi untuk profesi kesehatan*. Edisi 16, Jakarta : Buku kedokteran. Hlm 299-301
- Jawetz, E., Melnick, J.L., E.A., 2012, *Medical microbiologi*, 26. Ed. Elferia Nr, penerjemah : Jakarta
- Jawetz Melnick, dan Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Kim J.M ., Mashall M.R., Cornell J.A., Boston J.F., Wei CI. 1995. *Antibacterial activity of carvacrol, citrat and geraniols against salmonellatyphimurium in culture medium and fish cubes*. Dalam J, Food Sci. 60(6)
- Kusuma fauzi. dan kardiman, A. 2004. *meniran penambah daya tahan tubuh alami*. Bogor: Agromedia pustaka.
- Mardiana J., Ratnasari, J., 2011. *Ramuan dan khasiat sirsak.*, penebar swadaya; Jakarta.

- Maryuni, Agnes Eri. 2008. *Isolasi dan identifikasi antibakteri minyak atsiri daun zodia (Evodia sp.)*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Pengov, A. and Ceru, S. (2003) *antimicrobial drug susceptibility of stahpylococcus aureus strains isolated from bovine and ovine mammary glands*. J. Dairy Sci.86 :3157-3163.
- Purwatresna E., (2012), *aktivitas antidiabetes ekstrak air dan etanol daun sirsak secara in vitro melalui inhibisi enzim α -glukosidase, skripsi*, fakultas matematik dan ilmu pengetahuan alam, institut pertanian Bogor, Bogor.
- Putri, Zenda Fadila (2013). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L) DAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L) TERHADAP *Proplonibacterium acne* DAN *stahpylococcus aureus* MULTIRESISTEN, Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rao, Sridhar P. N. 2008 *sterilization and disinfection*. Davangere : Departemen of Microbiology.
- Robinson T. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Robinson T, 1995. *kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi*, diterjemahkan oleh Padwaminta. Bandung: penerbit ITB.
- Siswandono dan Bambang soekardjo. 1995. *Kimia medisinal* . Surabaya :Airlangga University press.
- Suriawiria U. 1986. *Pengantar mikrobiologi umum*. Bandung : Angkasa
- Syamsuhidayat, S.S dan Hutapea, J.R, 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, edisi kedua, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Voigt R., (1994), *Buku pelajaran teknologi farmasi*, diterjemahkan oleh Soendani Noerono Soewandhi, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. pp.516.
- Vijayameena C, G Subhashini, M Loganayagi, B Ramesh. Phytochemical screening and assessment of antibacterial activity for the bioactive compounds in *Annona muricata*. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 2013: 2(1); 1-8.
- Werckenthin, C., Cardoso, M ., Louismartel J. And Schwarz, S. 2001. *Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine s.aureus. porcine s. Hyicusand canine s. intermedius*. J .vet.Res. 32 : 341-362

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi daun sirsak



UPT- LABORATORIUM

No : 188/DET/UPT-LAB/04/VII/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkanbahwa :

Nama : Murni Gregori Koliman
NIM : 19133935 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

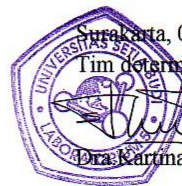
Telah mendeterminasikan tumbuhan : Sirsak (*Annona muricata.L*)

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.L*

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi 3 – 8 meter.
Akar : Tunggang.
Batang : Bulat, berkayu, percabangan monopodial.
Daun : Tunggal, bangunbulat memanjang, ujung meruncing pendek, pangkal runcing, tepi rata, tulang daun menyirip, seperti kulit, panjang 10,2 – 13,5 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 Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.



Surakarta, 04 Juli 2017
Tim determinasi

Dra. Kartimah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Foto daun dan serbuk daun sirsak



Daun sirsak (*A.Muricata* L)



Serbuk daun sirsak

Lampiran 3. Foto perkolator, corong pisah dan evaporator



Perkolator



Corong pisah



Evaporator

Lampiran 4. Foto alat timbangan, vortex, autoklaf, dan inkas.



Timbangan



Autoklaf



Inkas



Vortex

Lampiran 5. Foto Moisture, oven, dan Inkubator

Moisture balance



oven



Inkubator

Lampiran 6. Foto ekstrak daun sirsak , fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air



Ekstrak daun sirsak



Fraksi *n*-heksan daun sirsak




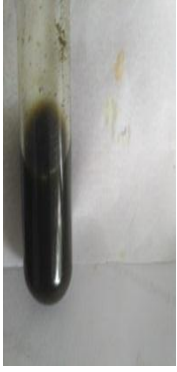







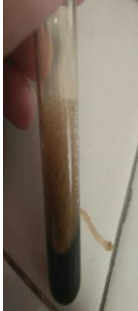


Fraksi etil asetat daun sirsak



Fraksi air daun sirsak

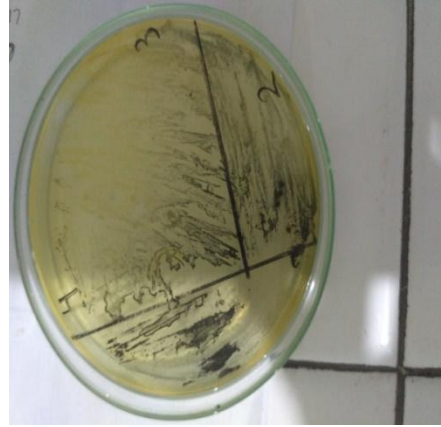
Lampiran 7. Foto identifikasi senyawa kimia daun sirsak

Senyawa				
	Ekstrak	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Flavonoid	 (+)	 (-)	 (+)	 (-)
Alkaloid	 (+)	 (-)	 (+)	 (-)
Saponin	 (+)	 (-)	 (-)	 (+)

Lampiran 8. Foto suspensi bakteri uji dan identifikasi bakteri secara biokimia



Suspensi bakteri pada media BHI



Identifikasi morfologi pada media VJA



Tes koagulase

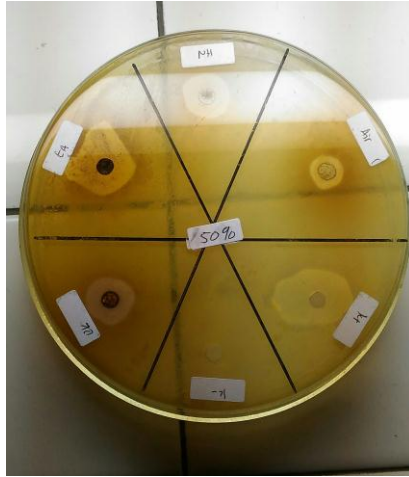


Tes Katalase

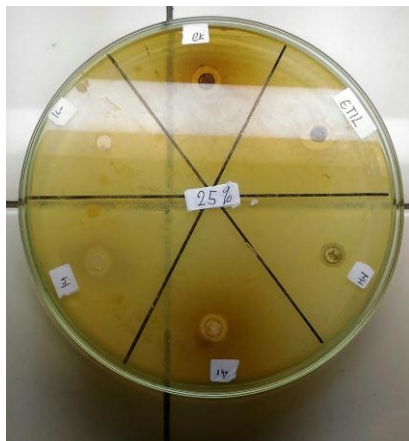


Pewarnaan Gram

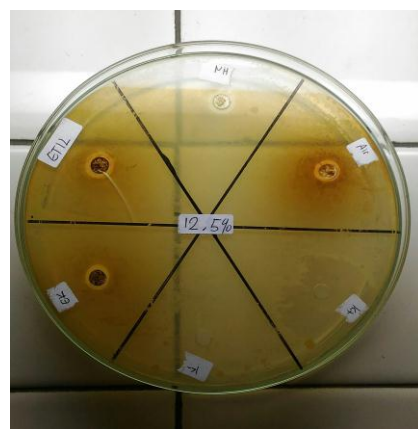
**Lampiran 9. Pengenceran difusi fraksi teraktif etil asetat konsentrasi 50%;
25%; 12,5%**



konsentrasi 50%

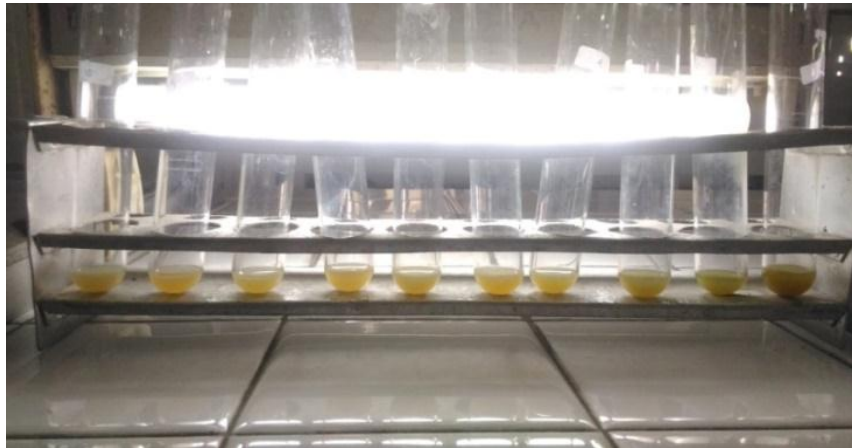


konsentrasi 25%



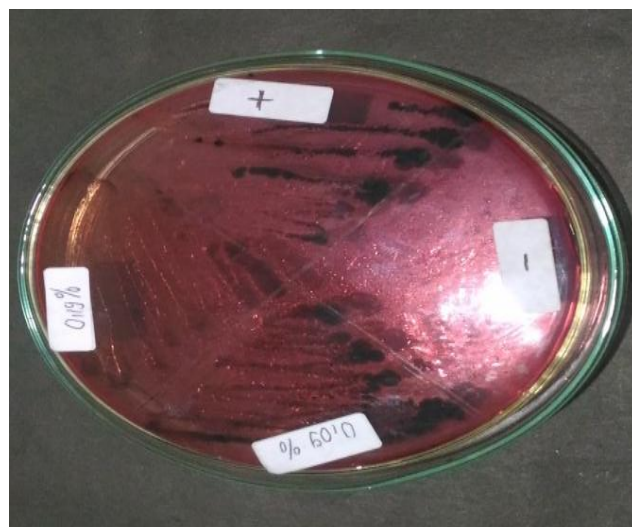
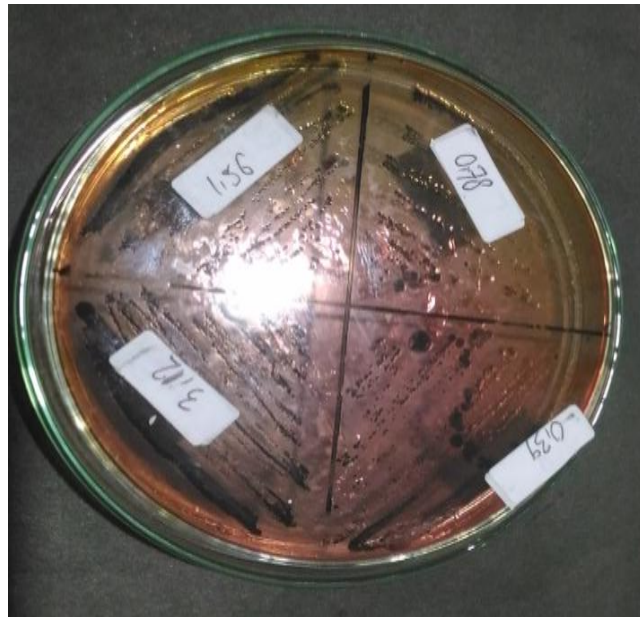
konsentrasi 12,5%

Lampiran 10. Foto hasil uji dilusi fraksi teraktif terhadap *Staphylococcus aureus*



Pembuatan berbagai konsentrasi pengenceran bertingkat





Keterangan : Hasil inokulasi dari fraksi teraktif etil asetat pada media VJA

Lampiran 11. Perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Presentase(%$\frac{b}{B}$)
37,5%	2100 gram	37,5 %

$$\begin{aligned} \text{Rendemen serbuk} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{2100 \text{ (g)}}{5600 \text{ (g)}} \times 100\% \\ &= 37,5\% \end{aligned}$$

Lampiran 12. Perhitungan penetapan susut pengeringan menggunakan alat *moisture balance*

No	Bobot awal (g)	Bobot bahan (g)	Susut pengeringan (%)
1	2,00 g	1,83	7,3%
2	2,00 g	1,87	6,5%
3	2,00 g	1,81	8,0%
Rata-rata			7,3%

Perhitungan penetapan susut serbuk daun sirsak :

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata} &= \frac{7,3\% + 6,5\% + 8,0\%}{3} \\ &= 7,3\% \end{aligned}$$

Lampiran 13. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun sirsak

Nama pelarut	Replikasi	Bobot ekstrak (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah+ ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen % ($\frac{b}{b}$)
<i>n</i>-heksan	1	10,09	99,41	100,58	1,18	11,69
	2	10,02	87,04	89,03	2,00	19,96
	3	10,01	89,42	91,42	2,01	20,07
Etil asetat	1		87,15	89,73	2,59	25,66
	2		88,57	90,59	2,03	20,25
	3		90,16	92,49	2,34	23,37
Air	1		220,00	225,50	5,51	54,60
	2		186,53	191,25	5,74	57,28
	3		183,25	188,46	5,22	52,14

Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol daun sirsak

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (1) = \frac{1,18}{10,09} \times 100 \% = 11,69\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (2) = \frac{2,00}{10,02} \times 100 \% = 19,96\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (3) = \frac{2,01}{10,01} \times 100 \% = 20,07\%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{11,69\% + 19,96\% + 20,07\%}{3} = 17,24\%$$

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun sirsak

$$\text{Rendemen (\%)} (1) = \frac{2,59}{10,09} \times 100 \% = 25,66\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (2) = \frac{2,03}{10,02} \times 100 \% = 20,25\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (3) = \frac{2,34}{10,01} \times 100 \% = 23,37\%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{25,66\% + 20,25\% + 23,37\%}{3} = 23,09\%$$

Perhitungan rendemen fraksi air dari ekstrak etanol daun sirsak

$$\text{Rendemen (\%)} (1) = \frac{5,51}{10,09} \times 100 \% = 54,60\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (2) = \frac{5,74}{10,02} \times 100 \% = 57,28\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} (3) = \frac{5,22}{10,01} \times 100 \% = 52,14\%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{54,60\% + 57,28\% + 52,14\%}{3} = 54,67 \%$$

Lampiran 14. Perhitungam diameter zona hambat pada uji antibakteri pada daun sirsak terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 secara difusi.

Sampel uji	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata
		1	2	3	
Fraksi <i>n</i> -heksan	50%	16	15	14	15,000
	25%	15	14	13	14,000
	12,5%	14	14	13	13,666
Fraksi etil asetat	50%	18	18	17	17,666
	25%	17	17	17	17,000
	12,5%	17	16	17	16,666
Fraksi air	50%	11	10	11	10,666
	25%	10	9	9	9,333
	12,5%	9	9	9	9,000
Ekstrak etanol	50%	8	8	8	8,00
	25%	8	9	9	8,666
	12,5%	8	8	9	8,333
Kontrol (+)		29	27	27	27,666
Kontrol (-)		0	0	0	-

1. Konsentrasi 50%

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi } n\text{-heksan} = \frac{16+15+14}{3} = 15.000$$

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi etil asetat} = \frac{18+18+17}{3} = 17.666$$

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi air} = \frac{11+10+11}{3} = 10.666$$

2. Konsentrasi 25%

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi } n\text{-heksan} = \frac{15+14+13}{3} = 14.000$$

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi etil asetat} = \frac{17+17+17}{3} = 17.000$$

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi air} = \frac{10+9+9}{3} = 9.333$$

3. Konsentrasi 12,5%

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi } n\text{-heksan} = \frac{14+14+13}{3} = 13.666$$

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi etil asetat} = \frac{17+16+17}{3} = 16.666$$

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi air} = \frac{9+9+9}{3} = 9.000$$

Lampiran 15. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Untuk Uji Dilusi

➤ **Larutan stok ekstrak daun sirsak 50%**

$$\begin{aligned} 50\% \text{ b/v} &= 50 \text{ gram} / 100 \text{ ml} \\ &= 2 \text{ gram} / 4 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 50%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 50\% &= 1 \text{ ml} \cdot 25\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 25\%}{50\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 25%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 25\% &= 1 \text{ ml} \cdot 12,5\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 12,5\%}{50\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 12,5%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 12,5\% &= 1 \text{ ml} \cdot 6,25\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 6,25\%}{50\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 6,25%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 6,25\% &= 1 \text{ ml} \cdot 3,125\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 3,125\%}{50\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 3,125%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 3,125\% &= 1 \text{ ml} \cdot 1,563\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 1,563\%}{50\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 1,563%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 1,563\% &= 1 \text{ ml} \cdot 0,781\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 0,781\%}{50\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 0,781%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 0,781\% &= 1 \text{ ml} \cdot 0,391\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 0,391\%}{50\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 0,391%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 0,391\% &= 1 \text{ ml} \cdot 0,196\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 0,196\%}{50\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

➤ **Konsentrasi 0,196%**

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 0,196\% &= 1 \text{ ml} \cdot 0,098\% \\ V_1 &= \frac{1 \times 0,098\%}{50\%} \end{aligned}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

➤ **Konsentrasi 0,098%**

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 0,098\% = 1 \text{ ml} \cdot 0,049\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,049\%}{50\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Lampiran 16. Analisis data uji Anova antara ekstrak etanol, fraksi n-Heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi 50%, 25%, 12.5% pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ekstrak etanol,fraksi n-heksan,fraksi etil asetat,fraksi air,amoksisilin	39	7,00	3,791	1	13
diameter	39	13,49	5,448	8	29

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	ekstrak etanol,fraksi n-heksan,fraksi etil asetat,fraksi air,amoksisilin	diameter
N	39	39
Normal Parameters ^{a,b}	Mean Std. Deviation	7,00 3,791
Most Extreme Differences	Absolute Positive Negative	,157 ,154 -,157
Kolmogorov-Smirnov Z	,583	,980
Asymp. Sig. (2-tailed)	,886	,292

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

ANOVA

Diameter					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1116,410	12	93,034	213,431	,000
Within Groups	11,333	26	,436		
Total	1127,744	38			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter		Tukey HSD				
(I) ekstrak etanol,fraksi n-heksan,fraksi etil asetat,fraksi air,amoksisilin	(J) ekstrak etanol,fraksi n-heksan,fraksi etil asetat,fraksi air,amoksisilin	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
d i 50%	d i fraksi n-heksan 50%	-7,000	,539	,000	-8,96	-5,04
m e n 50%	m e fraksi etil asetat 50%	-9,667	,539	,000	-11,63	-7,71
s i n 50%	s i fraksi air 50%	-2,667	,539	,002	-4,63	-,71
o n 25%	o ekstrak etanol 25%	-,333	,539	1,000	-2,29	1,63
o n 25%	o fraksi n-heksan 25%	-6,000	,539	,000	-7,96	-4,04

n 2	fraksi etil asetat 25%	-9,000	,539	,000	-10,96	-7,04	
	fraksi air 25%	-1,333	,539	,429	-3,29	,63	
	ekstrak etanol 12,5%	-,333	,539	1,000	-2,29	1,63	
	fraksi n-heksan 12,5%	-5,667	,539	,000	-7,63	-3,71	
	fraksi etil asetat 12,5%	-8,667	,539	,000	-10,63	-6,71	
	fraksi air 12,5%	-1,000	,539	,805	-2,96	,96	
	amoksisilin	-19,667	,539	,000	-21,63	-17,71	
fraksi n-heksan 50%	ekstrak etanol 50%	7,000	,539	,000	5,04	8,96	
	fraksi etil asetat 50%	-2,667	,539	,002	-4,63	-,71	
	fraksi air 50%	4,333	,539	,000	2,37	6,29	
	ekstrak etanol 25%	6,667	,539	,000	4,71	8,63	
	di m e n si o n 3	fraksi n-heksan 25%	1,000	,539	,805	-,96	2,96
	fraksi etil asetat 25%	-2,000	,539	,042	-3,96	-,04	
	fraksi air 25%	5,667	,539	,000	3,71	7,63	
	ekstrak etanol 12,5%	6,667	,539	,000	4,71	8,63	
	fraksi n-heksan 12,5%	1,333	,539	,429	-,63	3,29	
	fraksi etil asetat 12,5%	-1,667	,539	,154	-3,63	,29	
fraksi air 12,5%	6,000	,539	,000	4,04	7,96		
amoksisilin	-12,667	,539	,000	-14,63	-10,71		
fraksi etil asetat 50%	ekstrak etanol 50%	9,667	,539	,000	7,71	11,63	
	fraksi n-heksan 50%	2,667	,539	,002	,71	4,63	
	fraksi air 50%	7,000	,539	,000	5,04	8,96	
	ekstrak etanol 25%	9,333	,539	,000	7,37	11,29	
	di m e n si o n 3	fraksi n-heksan 25%	3,667	,539	,000	1,71	5,63
	fraksi etil asetat 25%	,667	,539	,986	-1,29	2,63	
	fraksi air 25%	8,333	,539	,000	6,37	10,29	
	ekstrak etanol 12,5%	9,333	,539	,000	7,37	11,29	
	fraksi n-heksan 12,5%	4,000	,539	,000	2,04	5,96	
	fraksi etil asetat 12,5%	1,000	,539	,805	-,96	2,96	
fraksi air 12,5%	8,667	,539	,000	6,71	10,63		
amoksisilin	-10,000	,539	,000	-11,96	-8,04		
fraksi air 50%	di m e n si o n 3	ekstrak etanol 50%	2,667	,539	,002	,71	4,63
	fraksi n-heksan 50%	-4,333	,539	,000	-6,29	-2,37	
	fraksi etil asetat 50%	-7,000	,539	,000	-8,96	-5,04	
	ekstrak etanol 25%	2,333	,539	,010	,37	4,29	
fraksi n-heksan 25%	-3,333	,539	,000	-5,29	-1,37		

	fraksi etil asetat 25%	-6,333	,539	,000	-8,29	-4,37
	fraksi air 25%	1,333	,539	,429	-,63	3,29
	ekstrak etanol 12,5%	2,333	,539	,010	,37	4,29
	fraksi n-heksan 12,5%	-3,000	,539	,000	-4,96	-1,04
	fraksi etil asetat 12,5%	-6,000	,539	,000	-7,96	-4,04
	fraksi air 12,5%	1,667	,539	,154	-,29	3,63
	amoksisilin	-17,000	,539	,000	-18,96	-15,04
ekstrak etanol 25%	ekstrak etanol 50%	,333	,539	1,000	-1,63	2,29
	fraksi n-heksan 50%	-6,667	,539	,000	-8,63	-4,71
	fraksi etil asetat 50%	-9,333	,539	,000	-11,29	-7,37
	fraksi air 50%	-2,333	,539	,010	-4,29	-,37
di	fraksi n-heksan 25%	-5,667	,539	,000	-7,63	-3,71
m	fraksi etil asetat 25%	-8,667	,539	,000	-10,63	-6,71
e	fraksi air 25%	-1,000	,539	,805	-2,96	,96
n	ekstrak etanol 12,5%	,000	,539	1,000	-1,96	1,96
si	fraksi n-heksan 12,5%	-5,333	,539	,000	-7,29	-3,37
o	fraksi etil asetat 12,5%	-8,333	,539	,000	-10,29	-6,37
n	fraksi air 12,5%	-,667	,539	,986	-2,63	1,29
3	amoksisilin	-19,333	,539	,000	-21,29	-17,37
fraksi n-heksan 25%	ekstrak etanol 50%	6,000	,539	,000	4,04	7,96
	fraksi n-heksan 50%	-1,000	,539	,805	-2,96	,96
	fraksi etil asetat 50%	-3,667	,539	,000	-5,63	-1,71
	fraksi air 50%	3,333	,539	,000	1,37	5,29
di	ekstrak etanol 25%	5,667	,539	,000	3,71	7,63
m	fraksi etil asetat 25%	-3,000	,539	,000	-4,96	-1,04
e	fraksi air 25%	4,667	,539	,000	2,71	6,63
n	ekstrak etanol 12,5%	5,667	,539	,000	3,71	7,63
si	fraksi n-heksan 12,5%	,333	,539	1,000	-1,63	2,29
o	fraksi etil asetat 12,5%	-2,667	,539	,002	-4,63	-,71
n	fraksi air 12,5%	5,000	,539	,000	3,04	6,96
3	amoksisilin	-13,667	,539	,000	-15,63	-11,71
fraksi etil asetat 25%	di ekstrak etanol 50%	9,000	,539	,000	7,04	10,96
	m fraksi n-heksan 50%	2,000	,539	,042	,04	3,96
	e fraksi etil asetat 50%	-,667	,539	,986	-2,63	1,29
	n fraksi air 50%	6,333	,539	,000	4,37	8,29
	o ekstrak etanol 25%	8,667	,539	,000	6,71	10,63

	3	fraksi n-heksan 25%	3,000	,539	,000	1,04	4,96
		fraksi air 25%	7,667	,539	,000	5,71	9,63
		ekstrak etanol 12,5%	8,667	,539	,000	6,71	10,63
		fraksi n-heksan 12,5%	3,333	,539	,000	1,37	5,29
		fraksi etil asetat 12,5%	,333	,539	1,000	-1,63	2,29
		fraksi air 12,5%	8,000	,539	,000	6,04	9,96
		amoksisilin	-10,667	,539	,000	-12,63	-8,71
fraksi air 25%		ekstrak etanol 50%	1,333	,539	,429	-,63	3,29
		fraksi n-heksan 50%	-5,667	,539	,000	-7,63	-3,71
		fraksi etil asetat 50%	-8,333	,539	,000	-10,29	-6,37
		fraksi air 50%	-1,333	,539	,429	-3,29	,63
di		ekstrak etanol 25%	1,000	,539	,805	-,96	2,96
m		fraksi n-heksan 25%	-4,667	,539	,000	-6,63	-2,71
e		fraksi etil asetat 25%	-7,667	,539	,000	-9,63	-5,71
n		ekstrak etanol 12,5%	1,000	,539	,805	-,96	2,96
s		fraksi n-heksan 12,5%	-4,333	,539	,000	-6,29	-2,37
i		fraksi etil asetat 12,5%	-7,333	,539	,000	-9,29	-5,37
o		fraksi air 12,5%	,333	,539	1,000	-1,63	2,29
n		amoksisilin	-18,333	,539	,000	-20,29	-16,37
3		ekstrak etanol 12,5%	,333	,539	1,000	-1,63	2,29
		fraksi n-heksan 50%	-6,667	,539	,000	-8,63	-4,71
		fraksi etil asetat 50%	-9,333	,539	,000	-11,29	-7,37
		fraksi air 50%	-2,333	,539	,010	-4,29	-,37
di		ekstrak etanol 25%	,000	,539	1,000	-1,96	1,96
m		fraksi n-heksan 25%	-5,667	,539	,000	-7,63	-3,71
e		fraksi etil asetat 25%	-8,667	,539	,000	-10,63	-6,71
n		fraksi air 25%	-1,000	,539	,805	-2,96	,96
s		fraksi n-heksan 12,5%	-5,333	,539	,000	-7,29	-3,37
i		fraksi etil asetat 12,5%	-8,333	,539	,000	-10,29	-6,37
o		fraksi air 12,5%	-,667	,539	,986	-2,63	1,29
n		amoksisilin	-19,333	,539	,000	-21,29	-17,37
3		fraksi n-heksan 12,5%	5,667	,539	,000	3,71	7,63
	di	ekstrak etanol 50%	-1,333	,539	,429	-3,29	,63
	m	fraksi n-heksan 50%	-4,000	,539	,000	-5,96	-2,04
	e	fraksi etil asetat 50%	3,000	,539	,000	1,04	4,96
	n	fraksi air 50%	5,333	,539	,000	3,37	7,29

	3 fraksi n-heksan 25%	- ,333	,539	1,000	-2,29	1,63
	fraksi etil asetat 25%	-3,333	,539	,000	-5,29	-1,37
	fraksi air 25%	4,333	,539	,000	2,37	6,29
	ekstrak etanol 12,5%	5,333	,539	,000	3,37	7,29
	fraksi etil asetat 12,5%	-3,000	,539	,000	-4,96	-1,04
	fraksi air 12,5%	4,667	,539	,000	2,71	6,63
	amoksisilin	-14,000	,539	,000	-15,96	-12,04
fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak etanol 50%	8,667	,539	,000	6,71	10,63
	fraksi n-heksan 50%	1,667	,539	,154	-,29	3,63
	fraksi etil asetat 50%	-1,000	,539	,805	-2,96	,96
	fraksi air 50%	6,000	,539	,000	4,04	7,96
di	ekstrak etanol 25%	8,333	,539	,000	6,37	10,29
m	fraksi n-heksan 25%	2,667	,539	,002	,71	4,63
e	fraksi etil asetat 25%	-,333	,539	1,000	-2,29	1,63
n	fraksi air 25%	7,333	,539	,000	5,37	9,29
si	ekstrak etanol 12,5%	8,333	,539	,000	6,37	10,29
o	fraksi n-heksan 12,5%	3,000	,539	,000	1,04	4,96
n	fraksi air 12,5%	7,667	,539	,000	5,71	9,63
3	amoksisilin	-11,000	,539	,000	-12,96	-9,04
fraksi air 12,5%	ekstrak etanol 50%	1,000	,539	,805	-,96	2,96
	fraksi n-heksan 50%	-6,000	,539	,000	-7,96	-4,04
	fraksi etil asetat 50%	-8,667	,539	,000	-10,63	-6,71
	fraksi air 50%	-1,667	,539	,154	-3,63	,29
	ekstrak etanol 25%	,667	,539	,986	-1,29	2,63
di	fraksi n-heksan 25%	-5,000	,539	,000	-6,96	-3,04
m	fraksi etil asetat 25%	-8,000	,539	,000	-9,96	-6,04
e	fraksi air 25%	-,333	,539	1,000	-2,29	1,63
n	ekstrak etanol 12,5%	,667	,539	,986	-1,29	2,63
si	fraksi n-heksan 12,5%	-4,667	,539	,000	-6,63	-2,71
o	fraksi etil asetat 12,5%	-7,667	,539	,000	-9,63	-5,71
n	Amoksisilin	-18,667	,539	,000	-20,63	-16,71
3	amoksisilin	19,667	,539	,000	17,71	21,63
	di ekstrak etanol 50%	12,667	,539	,000	10,71	14,63
	m fraksi n-heksan 50%	10,000	,539	,000	8,04	11,96
	e fraksi etil asetat 50%					
	n fraksi etil asetat 50%					
	si					

o	fraksi air 50%	17,000	,539	,000	15,04	18,96
n	ekstrak etanol 25%	19,333	,539	,000	17,37	21,29
3	fraksi n-heksan 25%	13,667	,539	,000	11,71	15,63
	fraksi etil asetat 25%	10,667	,539	,000	8,71	12,63
	fraksi air 25%	18,333	,539	,000	16,37	20,29
	ekstrak etanol 12,5%	19,333	,539	,000	17,37	21,29
	fraksi n-heksan 12,5%	14,000	,539	,000	12,04	15,96
	fraksi etil asetat 12,5%	11,000	,539	,000	9,04	12,96
	fraksi air 12,5%	18,667	,539	,000	16,71	20,63

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Diameter

Tukey HSD^a

ekstrak etanol,fraksi n-heksan,fraksi etil asetat,fraksi air,amoksisilin	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
ekstrak etanol 50%	3	8,00					
ekstrak etanol 25%	3	8,33					
ekstrak etanol 12,5%	3	8,33					
c fraksi air 12,5%	3	9,00	9,00				
i fraksi air 25%	3	9,33	9,33				
e fraksi air 50%	3		10,67				
r fraksi n-heksan 12,5%	3			13,67			
s fraksi n-heksan 25%	3			14,00			
i fraksi n-heksan 50%	3			15,00	15,00		
c fraksi etil asetat 12,5%	3				16,67	16,67	
r fraksi etil asetat 25%	3					17,00	
fraksi etil asetat 50%	3					17,67	
amoksisilin	3						27,67
Sig.		,429	,154	,429	,154	,805	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.