

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KOMBINASI DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
dan DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
Staphylococcus aureus ATCC 25923 SECARA DILUSI**



Oleh :

**Nur Dyah Kumalasari
20144145A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KOMBINASI DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
dan DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
Staphylococcus aureus ATCC 25923 SECARA DILUSI**

SKRIPSI

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

oleh :
Nur Dyah Kumalasari
20144145A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Dengan judul :

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KOMBINASI DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)¹
dan DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L) TERHADAP PERTUMBUHAN
Staphylococcus aureus ATCC 25923 SECARA DILUSI**

disusun oleh:

Nama : Nur Dyah Kumalasari

Nim : 20144145A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 10 Maret 2018



Dekan,

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

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Pembimbing Utama

Iswandi, S.Si,M.Farm.,Apt

Pembimbing Pendamping

Edy Prasetya,Drs.,M.Si

Penguji:

1. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.
2. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt
3. Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt
4. Iswandi S.Si,M.Farm., Apt

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, Maret 2018



Nur Dyah Kumalasari

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Pendidikan merupakan perlengkapan paling baik untuk hari tua.”

(Aristoteles)

“Bila kau tak tahan lelahnya belajar, maka kau harus tahan menanggung perihnya kebodohan.”

(Imam Syafie)

“Allah menghendaki untukmu kemudahan dan tidak menghendaki untukmu kesukaran”

(QS Al-Baqarah : 185)

Ku persembahkan Skripsi ini untuk:

*Bapak ibu ku dan semua keluarga ku
Sahabat, Almamater, Bangsa dan Negaraku*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat serta hidayahNya, sehingga Penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan baik guna memenuhi syarat kelulusan derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Alhamdulillahirobbil' alamin, dengan menyebut nama Allah SWT akhirnya Penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS EKSTRAK KOMBINASI DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) dan DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA DILUSI”**.

Penulis sadari bahwa selesainya Skripsi ini berkat bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis terimakasih atas segala bantuan dan dukungannya kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan segala anugerah, nikmat serta petunjuk dalam setiap langkah ku.
2. DR. Djoni Taringan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi
3. Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
4. Iswandi, M. Farm., Apt selaku Pembimbing Utama dan Drs. Edy Prasetya selaku Pembimbing Pendamping yang telah dengan sabar dan ikhlas meluangkan waktu dan tenaganya untuk membimbing, mengarahkan dan memberikan ilmunya kepada penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
5. Tim penguji skripsi yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan, kritik dan saran kepada penulis.
6. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf perpustakaan dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
7. Bapak, ibuku dan semua keluarga besarku yang telah memberikan cinta, kasih sayang, doa, dan dukungan untuk segera menyelesaikan skripsi ini.

8. Teman-teman ku, Sri winarni sofya, Risky Herdina, Mia ariasti, Mega ayu, Indri kurniawati, Cindy palosa, Putri ayu, dan semua teman-teman FKK 3
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan hingga selesainya penyusunan Skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan. Itu semua karena keterbatasan penulis. Penulis sangat mengharapkan kritikan, masukan yang sifatnya membangun sehingga akan menambah wawasan penulis. Penulis sangat berharap semoga skripsi ini berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Surakarta,

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	5
1. Klasifikasi	5
2. Diskripsi Tanaman	5
3. Kandungan Kimia	6
4. Nama Lain.....	6
5. Khasiat Daun Sirsak	6
B. Tinjauan Umum Tentang Tanaman Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	6
1. Klasifikasi	6
2. Morfologi dan Karakteristik	6
3. Kandungan kimia	7
4. Nama Lain.....	7
5. Khasiat Daun Jambu biji.....	7
C. Kandungan Kimia	7

1.	Flavonoid.....	7
2.	Saponin.....	8
3.	Alkaloid.....	8
4.	Tanin.....	8
D.	Efek Kombinasi.....	8
E.	Simplisia.....	9
1.	Pengertian Simplisa.....	9
2.	Pengeringan.....	9
F.	Ekstraksi.....	9
1.	Pengertian Ekstraksi.....	9
2.	Metode Ekstraksi.....	10
3.	Pelarut.....	10
G.	Kromatografi Lapis Tipis.....	10
H.	Media.....	12
1.	Pengertian media.....	12
2.	Klasifikasi media.....	12
2.1	Media kompleks.....	12
2.2	Media biakan khusus.....	12
2.3	Media sintetik.....	12
2.4	Media selektif dan diferensial.....	13
2.5	Media pengayaan.....	13
2.6	Media anaerob.....	13
I.	Sterilisasi.....	13
J.	<i>Staphylococcus aureus</i>	14
1.	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.	Morfologi dan fisiologi.....	14
3.	Identifikasi.....	14
4.	Metabolit bakteri.....	15
4.2	Lipase dan tributirinase.....	15
4.3	Katalase.....	15
4.4	Antigen permukaan.....	15
4.5	Hialuronidase.....	15
4.7	Gelatinase dan protease.....	15
4.8	Hemolisin.....	15
4.9	Leukosidin.....	16
4.10	Sitotoksin.....	16
4.11	Toksin eksfoliatin.....	16
4.12	Enterotoksin.....	16
5.	Patogenesis.....	17
6.	Pengobatan <i>Staphylococcus aureus</i>	17
K.	Antibakteri.....	18
1.	Prinsip terapi antibakteri.....	18
2.	Mekanisme antibakteri.....	18
2.1	Penghambatan sintesis dinding sel.....	18
2.2	Penghambatan sintesis protein sel bakteri.....	19

2.3 Menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri	19
2.4 Menghambat sintesis metabolit esensial.....	19
2.5 Merusak membran plasma sel bakteri	19
3. Metode pengujian aktivitas antibakteri.....	19
4. Metode Dilusi.....	20
5. Metode Difusi	20
L. Landasan Teori.....	21
M. Hipotesis	22
BAB III METODE PENELITIAN	24
A. Populasi dan Sampel	24
B. Variabel Penelitian	24
1. Identifikasi variabel utama	24
2. Klasifikasi variabel utama	24
1.1 Variabel bebas merupakan	24
1.2 Variabel terkendali	24
1.3 Variabel tergantung	25
3. Definisi operasional variabel utama	25
C. Alat dan Bahan.....	27
1. Alat	27
2. Bahan.....	27
D. Jalannya Penelitian.....	27
1. Pengumpulan simplisia.....	27
2. Determinasi tanaman	27
3. Pembuatan serbuk	28
4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun jambu biji.....	28
5. Pembuatan larutan ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji	28
5.1 Larutan ekstrak etanol daun sirsak	28
5.2 Larutan ekstrak etanol daun jambu biji.	28
6. Pembuatan larutan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji	29
6.1 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji 1:1	29
6.2 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji 1:3	29
6.3 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji 3:1.	29
7. Tes bebas etanol daun sirsak dan daun jambu biji	29
8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun jambu biji	29
9. Sterilisasi.....	31
10. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	31

10.1	Identifikasi bakteri.....	31
10.2	Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.....	32
10.3	Identifikasi biokimia.....	32
11.	Pengujian Aktivitas Antibakteri secara dilusi.....	33
E.	Analisis Hasil.....	33
F.	Skema Jalannya penelitian.....	34
1.	Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) dan daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	35
2.	Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) dan serbuk daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	36
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		37
A.	Penyiapan Bahan Tanaman.....	37
1.	Determinasi tanaman sirsak dan tanaman jambu biji.....	37
2.	Hasil pengumpulan bahan, pengeringan dan pembuatan serbuk daun sirsak dan daun jambu biji.....	37
2.1	Pengumpulan bahan.....	37
2.2	Pengeringan daun sirsak dan daun jambu biji.....	37
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan serbuk daun jambu biji.....	38
4.	Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak dan Daun Jambu Biji.....	39
4.1	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirsak.....	39
4.2	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji.....	39
4.3	Hasil pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan jambu biji 1:1.....	40
4.4	Hasil pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan jambu biji 1:3.....	40
4.5	Hasil pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan jambu biji 3:1.....	41
5.	Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Sirsak, Daun Jambu Biji, dan Kombinasinya.....	41
6.	Identifikasi Kandungan Kimia ekstrak Daun Sirsak dan Daun Jambu Biji.....	41
6.1	Hasil identifikasi KLT senyawa flavonoid.....	42
6.2	Hasil identifikasi KLT senyawa alkaloid.....	43
6.3	Hasil identifikasi KLT senyawa saponin.....	43
6.4	Hasil identifikasi KLT senyawa tanin.....	44
B.	Pengujian Aktivitas Antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	45
1.	Hasil pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	45
2.	Hasil Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	45

2.1 Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara makroskopis.....	45
2.2 Hasil Identifikasi Mikroskopis Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram.....	46
2.3 Hasil Identifikasi secara Biokimia.....	46
3. Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi	47
3.1 Penetapan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum).....	48
3.2 Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).....	48
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	 52
A. Kesimpulan.....	52
B. Saran.....	52
 DAFTAR PUSTAKA	 53
 LAMPIRAN	 59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daunsirsak	5
Gambar 2. Daun Jambu biji	7
Gambar 3. Skema jalannya penelitian	34
Gambar 4. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) dan daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.)	36
Gambar 5. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) dan serbuk daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	36
Gambar 6. Hasil identifikasi flavonoid ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji pada fase diam silika gel GF254 dan fase gerak etil asetat: asam formiat: asam asetat glassial: air (100:11:11:27).....	42
Gambar 7. Hasil identifikasi alkaloid ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji pada fase diam silika gel GF254 dan fase gerak toluen: etil asetat: dietil amin (7:2:1).....	43
Gambar 8. Hasil identifikasi saponin ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji pada fase diam silika gel GF254 dan fase gerak kloroform: metanol : air (64:50:10).....	43
Gambar 9. Hasil identifikasi tanin ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji pada fase diam silika gel GF254 dan fase gerak etil asetat: asam formiat: toluene : air (6:1,5:3:0,5)	44
Gambar 10. Identifikasi Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	45
Gambar 11. Identifikasi Pewarnaan Gram <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil persentase bobot basah terhadap bobot kering daun sirsak	38
Tabel 2. Hasil persentase bobot basah terhadap bobot kering daun jambu biji	38
Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan serbuk daun jambu biji	38
Tabel 4. Hasil perhitungan kadar rendemen ekstrak daun sirsak	39
Tabel 5. Hasil perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu biji	39
Tabel 6. Hasil perhitungan kadar rendemen kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji 1:1	40
Tabel 7. Hasil perhitungan kadar rendemen kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji 1:3	40
Tabel 8. Hasil perhitungan kadar rendemen kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji 1:3	41
Tabel 9. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun sirsak, ekstrak daun jambu biji, dan kombinasinya	41
Tabel 10. Hasil Identifikasi secara Biokimia	47
Tabel 11. Hasil uji dilusi ekstrak tunggal daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.), ekstrak tunggal daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) dan kombinasi ekstrak terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman.....	60
Lampiran 2. Foto daun sirsak dan daun jambu biji.....	62
Lampiran 3. Foto serbuk daun sirsak dan daun jambu biji	63
Lampiran 4. Ekstrak kental daun sirsak, ekstrak kental daun jambu biji, dan kombinasi ekstrak.....	64
Lampiran 5. Foto alat evaporator, botol meserasi, moisture balance, dan oven.	65
Lampiran 6. Foto autoclave, inkas, penggiling simplisia, daan inkubator	66
Lampiran 7. Foto hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimia.....	67
Lampiran 8. Foto larutan stok untuk uji dilusi dengan konsentrasi 50%	68
Lampiran 9. Foto hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi	69
Lampiran 10. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering serbuk daun sirsak dan daun jambu biji	74
Lampiran 11. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun jambu biji.....	75
Lampiran 12. Perhitungan kadar rendemen ekstrak daun sirsak, ekstrak daun jambu biji dan kombinasi keduanya	76
Lampiran 13. Pembuatan larutan stok uji dilusi dengan berbagai konsentrasi	78
Lampiran 14. Perhitungan larutan fase gerak.....	80
Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media	81
Lampiran 16. Hasil analisis data dengan statistic menggunakan Kruskal- Wallis Test.....	82

INTISARI

KUMALASARI.N.D., 2018 Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara Dilusi, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, acetogenins dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin diduga mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji masing-masing berkhasiat sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol kombinasi daun sirsak dan daun jambu biji terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ekstraksi daun sirsak dan daun jambu biji menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode dilusi dengan sampel ekstrak tunggal daun sirsak, ekstrak tunggal daun jambu biji, dan kombinasi ekstrak 1:1, 1:3, 3:1. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 50%; 25%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak tunggal daun sirsak dan ekstrak tunggal jambu biji adalah 25% dan 6,25%. Nilai konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi yang paling efektif dari ekstrak daun sirsak dan daun ekstrak jambu biji adalah kombinasi 1:3 sebesar 12,5%.

Kata kunci : Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, Kombinasi, Daun sirsak (*Annona muricata* L.), Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

ABSTRACT

KUMALASARI.N.D., 2018, TEST OF EXTRACT COMBINATION ACTIVITY OF SOURSOP LEAF (*Annona muricata* L.) and GUAVA LEAF (*Psidium guava* L.) ON GROWTH OF *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 , THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Soursop leaf (*Annona muricata* L.) contain flavonoid, tannins, alkaloids, saponins, and acetogenins while guava leaf (*Psidium guava* L.) contain flavonoid, tannins, alkaloids, saponins, and acetogenins that are thought to have antibacterial activity. In the previous research, ethanol extract of soursop leaf and guava leaf respectively efficacious as antibacterial *Staphylococcus aureus*. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of soursop leaf and guava leaf to the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria.

The extraction of soursop leaf and guava leaf using maceration method with 96% ethanol. The testing of antibacterial activity used was dilution method with single extract sample of soursop leaf, single extract of guava leaf, and combination of 1:1,1:3,3:1 extract. The concentration of extract used was 50%; 25%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%.

The minimum bactericidal concentration (MBC) of single extract of soursop leaf and single guava extract were 25% and 6,25%. The minimum bactericidal concentration (MBC) most effective combination of soursop leaf extract and guava extract leaf is a 1:3 combination of 12,5%.

Keyword : Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, Combination, Soursop leaf (*Annona muricata* L.), Guava leaf (*Psidium guava* L.)

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Zaman modern ini banyak ditemukan penyakit-penyakit yang menyerang masyarakat luas. Penyakit tersebut dapat dikarenakan oleh beberapa hal, salah satu penyebab paling umum karena mikroba, baik dari bakteri ataupun jamur. *Staphylococcus aureus* adalah salah satu jenis bakteri yang berbahaya bagi manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menyebabkan infeksi, yang ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses seperti : bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, meningitis, infeksi saluran kemih, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab utama infeksi nosokomial akibat luka tindakan operasi dan pemakaian dari alat perawatan di rumah sakit. *Staphylococcus aureus* juga menyebabkan keracunan makanan akibat enterotoksin yang dihasilkan dan menyebabkan *toxic shock syndrome* (Radji 2011). Kemampuan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam menimbulkan penyakit dengan menyebar luas ke jaringan melalui berbagai zat ekstraseluler (Jawetz *et al.* 2008).

Pengobatan akibat infeksi ringan dari bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diberikan antibiotik berupa golongan penicilin. Penicilin untuk infeksi yang berat diduga sudah ada beberapa yang resisten. Akibat adanya resisten terhadap penicilin, maka saat ini telah banyak dilakukan penelitian mengenai alternatif pengobatan untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan yaitu daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.).

Berdasarkan hasil penelitian Sari *et al.* tahun 2010 menyatakan bahwa senyawa aktif pada daun sirsak adalah flavonoid, polifenol dan alkaloid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi untuk antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein, sedangkan senyawa alkaloid merupakan senyawa basa yang dapat digunakan sebagai antibakteri

dengan cara denaturasi protein (Sari *et al.* 2010). Daun sirsak dapat berfungsi untuk antiparasit, antispasmodik, antikanker, sedatif, hipotensi, insektisida, dan penyakit kulit (Sri Sudewi dan Widya 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 12,3 mm (Leman *et al.* 2015).

Tanaman lain yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah daun jambu biji (*Psidium guajava L.*). Senyawa dalam daun jambu biji meliputi flavonoid, tanin dan saponin mempunyai efek antibakteri. Menurut Minasari *et al.* 2016 kandungan utama yang terdapat dalam daun jambu biji adalah senyawa tanin yang berfungsi sebagai antibakteri. Tanin bekerja dengan menginaktivasi enzim dan akan bereaksi dengan protein membentuk ikatan hidrogen yang akan menyebabkan denaturasi protein (Jennie *et al.* 2014). Berdasarkan penelitian Minasari *et al.* tahun 2016, telah dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak jambu biji terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi. Hasil penelitian tersebut didapatkan hasil KHM dan KBM sebesar 3,125% dan 6,25%. Senyawa yang digunakan dalam penelitian ini meliputi senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang kemudian akan dilakukan monitoring dengan menggunakan metode KLT.

Penggunaan kombinasi obat herbal adalah campuran dua ataupun lebih obat dalam satu formulasi. Efek kombinasi dari beberapa agent kimia yang berbeda dapat dilihat hubungan dosis yang linier dan terdapat jenis interaksi antara dua agen kimia yaitu kontraindikasi (kerja berlawanan), sinergis (efek sejenis), dan efek komplementer (saling mendukung) (Pramono 2006).

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode dilusi. Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk membunuh bakteri (Jawetz *et al.* 1986).

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya terhadap masing-masing daun sirsak dan daun jambu biji yang terbukti masing-masing daun dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menarik peneliti untuk membuat kombinasi kedua bahan tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara dilusi.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Apakah ekstrak etanol dari kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri ?
3. Berapakah kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

1. Dapat menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Dapat mengetahui ekstrak etanol dari kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) memiliki aktivitas antibakteri.
3. Dapat mengetahui kombinasi berapa yang memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam memberikan informasi kepada masyarakat bahwa penggunaan kombinasi dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terbukti dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.)

1. Klasifikasi

Menurut Sunarjono (2005) daun sirsak dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Clasis : Dicotyledoneae
Ordo : Polycarpiceae
Familia : Annonaceae
Genus : *Annona*
Spesies : *Annona muricata* L.

2. Diskripsi Tanaman

Tanaman sirsak secara umum adalah pohon, tinggi mencapai 8 meter dengan batang yang berkayu bulat bercabang dan berwarna coklat kotor, daun sirsak berbentuk tunggal, bulat telur atau lansat, ujung runcing, tepi pangkal meruncing, panjangnya 16-18 cm dan lebar 2-6 cm. Daun sirsak menyirip berwarna hijau kekuningan atau hijau. Bunga berbentuk tunggal pada batang dan ranting, daun kelopak kecil berwarna kuning keputih-putihan, benang sari banyak mahkota berdaging dan bentuk bulat telur. Buahnya majemuk berbentuk bulat telur dengan panjang 15-35 cm berdiameter 5-10 cm dan berwarna hijau. Biji berbentuk tunggang, bulat, dan berwarna coklat muda (DepKes RI 2001).



Gambar 1. Daunsirsak
Dikutip dari: Arief Hariana 2013

3. Kandungan Kimia

Berdasarkan penelitian Sari *et al.* tahun 2010 daun sirsak mengandung bahan aktif, seperti saponin, flavonoid, tanin, polifenol, dan alkaloid.

4. Nama Lain

Tanaman sirsak mempunyai nama daerah yaitu : Di berbagai daerah Indonesia dikenal sebagai nangka sebrang, nangka landa (Jawa), Nangka walanda, sirsak(Sunda), nangka buris (Madura), srikaya jawa (Bali), boh lôna(Aceh), durio ulondro (Nias), durian betawi (Minangkabau) (Ita Hasmila *et al.* 2015).

5. Khasiat Daun Sirsak

Menurut Sari *et al.* tahun 2010, kegunaan daun sirsak sebagai antibakteri, antivirus, antiparasit, kardiotonik, dekongestan, menurunkan panas.

B. Tinjauan Umum Tentang Tanaman Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

1. Klasifikasi

Menurut Herbie T (2015) klasifikasi tanaman jambu biji sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Clasis	: Dicotyledonae
Ordo	: Myrtales
Familia	: Myrtaceae
Genus	: Psidium
Spesies	: <i>Psidium guajava</i> L.

2. Morfologi dan Karakteristik

Jambu biji adalah tanaman pohon dengan tinggi dapat mencapai 5-6m. Batang mempunyai cabang banyak dengan kulit berwarna dan licin. Daun berbentuk bulat telur, kasar, dan berwarna hijau. Bunga tumbuh pada ketiak-ketiak daun berwarna putih. Buah terdapat banyak biji yang memiliki rasa manis serta harum (Arief Hariana 2013).



Gambar 2. Daun Jambu biji
Dikutip dari : Arief Hariana, 2013

3. Kandungan kimia

Penelitian yang telah dilakukan Minasari *et al.* tahun 2016 menyatakan bahwa daun jambu biji mengandung senyawa flavonoid, tannin, terpenoid dan saponin mempunyai efek antibakteri.

4. Nama Lain

Tanaman jambu biji memiliki nama daerah : galiman (Batak), masiambu (Nias), jambu klutuk, jambu krikil, jambu biji (Melayu), jambu klutuk (Jawa), guawa (Flores), jambu paratugala (Makasar), gayawa (Ternate, Halmahera) (Hapsoh dan Hasanah 2011).

5. Khasiat Daun Jambu biji

Tumbuhan jambu biji dapat dimanfaatkan sebagai obat diare, disentri, gastroen-teritis, sakit perut, dan gangguan pencernaan (Ismail *et al.* 2012).

C. Kandungan Kimia

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa daun sirsak dan daun jambu biji mengandung senyawa kimia berikut ini :

1. Flavonoid.

Menurut Harbone 1987 flavonoid merupakan senyawa yang paling umum terdapat pada tanaman, flavonoid terikat oleh gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid yang terdapat pada tanaman dapat berupa mono, -di, -triglikosida, dimana satu, dua atau ketiganya terikat oleh gula (Sovia Lenny

2006). Menurut Minasari *et al.* tahun 2016 mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai senyawa antibakteri yaitu dengan cara merusak sel bakteri, denaturasi protein, inaktivasi enzim dan menyebabkan lisis.

2. Saponin.

Saponin merupakan suatu senyawa aktif yang mempunyai sifat seperti sabun sehingga dapat membentuk suatu busa. Senyawa saponin mempunyai aktivitas sebagai antimikroba. Senyawa saponin bila terhidrolisis akan menghasilkan aglikon yang disebut sapogenin (Harbone 1987).

3. Alkaloid.

Alkaloid merupakan suatu senyawa yang mempunyai sifat basa yang mengandung satu atau lebih senyawa nitrogen. Alkaloid dalam bentuk bebas merupakan basa lemah yang sukar larut dalam air tetapi dapat larut dalam pelarut organik (Harborne 1987).

4. Tanin.

Tanin merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman. Mekanisme tanin sebagai antibakteri dengan cara mengerutkan dinding sel dan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik (Minasari *et al.* 2016).

D. Efek Kombinasi

Pengertian kombinasi obat menurut Tan dan Raharja tahun 2002 yaitu suatu campuran dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiat masing-masing obat dapat saling mempengaruhi. Efek kombinasi obat herba menurut Pramono 2006 menghasilkan tiga efek yang berbeda yaitu efek komplementer, efek sinergis, dan efek kontaindikasi.

Efek komplementer adalah efek saling mendukung satu sama lain untuk mencapai efektivitas pengobatan. Jenis ramuan yang digunakan harus saling menunjang terhadap suatu efek yang dikehendaki. Setiap unsur bisa terdiri lebih dari 1 jenis OT sehingga komposisi OT lazimnya cukup kompleks. Efek sejenis (sinergis) adalah efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat sama dan saling menguntungkan, contohnya adalah herba timi

dan kumis kucing. Efek kontaindikasi adalah efek yang dihasilkan saling berlawanan (kontadiksi), contohnya adalah rimpang temu lawak.

E. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia mineral. Nama latin simplisia ditetapkan dengan menyebut nama marga (genus), nama jenis (spesies), dan bila memungkinkan petunjuk jenis (varietas) diikuti dengan bagian yang digunakan (Farmakope Herbal Indonesia 2008)

2. Pengeringan

Proses pengeringan memiliki dua tujuan utama yaitu pertama untuk menurunkan kadar air sehingga bahan simplisia yang akan digunakan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri dan tujuan yang kedua pengeringan digunakan untuk menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif sehingga dapat memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya (Gunawan dan Mulyani 2004). Cara dalam proses pengeringan dibagi menjadi dua yaitu cara pengeringan udara terbuka dan cara pengeringan dengan udara panas buatan. Pelaksanaan peraturan pengeringan ditentukan dari bentuk atau bagian bahan simplisia yang akan dikeringkan (Brotosiswono 1978).

F. Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, tetapi sel tanaman dan hewan memiliki ketebalan yang berbeda, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Akhyar 2010).

Tujuan ekstraksi bahan alam 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. Metode yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi bermacam-macam, diantaranya yaitu maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, digesti, infus, dan dekok (DepKes RI 1979).

2. Metode Ekstraksi

Ekstraksi secara maserasi. Maserasi adalah proses pengestraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (DepKes RI 2000). Maserasi dilakukan dengan cara: pertama masukan 10 bagian serbuk simplisia dengan derajat kehalusan yang cocok dimasukkan kedalam botol maserasi, kemudian ditambahkan dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindungi dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari ampas ditambahkan cairan penyari secukupnya diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian (Sediaan galenik 1986).

3. Pelarut

Penggunaan pelarut dalam proses ekstraksi didasarkan pada kemampuan daya larut yang aktif, zat tidak aktif dan zat yang tidak diinginkan sesuai preparat yang digunakan (Ansel 1989). Pelarut yang digunakan adalah etanol. Etanol dapat melarutkan senyawa seperti alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakuinon, steroid, damar, klorofil, lemak, tanin dan saponin. Keuntungan penggunaan pelarut etanol sebagai larutan penyari karena lebih selektif, tidak bersifat racun, netral, dan memiliki absorpsi yang baik (DepKes 1986). Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% yang merupakan campuran etanol dan air.

G. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu salah satu metode pemisahan senyawa dan alat yang digunakan untuk menguji senyawa kimia baik secara kualitatif dan kuantitatif. Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa tunggal atau

campuran dari suatu hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan, tanaman atau mikroorganisme. Keuntungan dari kromatografi adalah peralatan yang diperlukan sedikit, waktu cepat, sederhana dan daya pisah yang cukup baik (Stahl 1985). KLT pada umumnya digunakan untuk uji identifikasi senyawa dalam jumlah yang sedikit dan digunakan untuk pemisahan secara cepat (DepKes 1985).

Teknik pengerjan KLT dilakukan sebagai berikut, fasa diam dilapiskan pada suatu lembaran kaca atau media yang lain sebagai pendukungnya. Zat yang akan dipisahkan ditotolkan pada salah satu ujung lempengan fasa diam tersebut. Lempengan diletakkan tegak di dalam suatu wadah yang diisi dengan sedikit pelarut (fasa gerak), wadah ini harus ditutup rapat agar terbentuk uap yang jenuh dan untuk mengurangnya adanya penguapan pelarut. Setelah didiamkan beberapa lama, maka campuran zat yang ditotolkan akan terbawa oleh aliran fasa gerak kemudian terpisah sesuai dengan daya adsorbs fase diam terhadap masing-masing komponen dalam campuran. Komponen yang diserap lebih kuat akan tertinggal di bagian bawah lempeng, sedangkan yang tidak diserap akan terbawa oleh rambatan fasa gerak. Pada lempeng KLT akan terlihat spot (bercak) yang menggambarkan pemisahan komponen pada campuran tersebut.

Parameter yang digunakan dalam KLT adalah nilai Rf. Jarak yang ditempuh masing-masing komponen dirumuskan dengan:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut pengembang}}$$

Faktor yang mempengaruhi nilai Rf adalah struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, derajat aktivitasnya dan derajat kemurniannya, sifat dari penyerap (absorben), kejenuhan dari uap dalam chamber, jumlah cuplikan yang digunakan dalam penelitian dan peraut yang digunakan sebagai fase gerak (Akhyar 2010). Cara untuk deteksi KLT diataranya secara fisika dengan menggunakan sinar UV 254nm dan 366nm dan secara kimia dengan peraksi semprot menggunakan uap yodium, asam sulfat pekat, campuaran asam sulfat dengan kalium bikromat (Sudjadi 1986).

H. Media

1. Pengertian media

Media merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran beberapa nutrisi yang biasa digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme baik berupa bakteri, jamur maupun mikroorganisme lainnya (Benson 2002). Syarat media dapat menumbuhkan mikroorganisme yang baik yaitu yang pertama media harus diinkubasi pada suhu tertentu, mempunyai kelembapan yang cukup baik untuk pertumbuhan mikroorganisme, kadar pH yang sesuai, kadar oksigen yang mencukupi, tidak mengandung bahan yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme, media yang akan digunakan harus steril dan mengandung cukup nutrisi (Radji 2010).

2. Klasifikasi media

Menurut Radji (2011), klasifikasi media pertumbuhan bakteri dibagi menjadi 6 jenis yaitu :

2.1 Media kompleks. Media ini mengandung nutrisi yang tinggi, yang terdiri atas ragi, ekstrak daging, tumbuhan atau protein dari sumber lain. Media kompleks yang berbentuk cairan disebut *Nutrient Broth* sedangkan yang ditambahkan dengan media gela disebut *Nutrient Agar*.

2.2 Media biakan khusus. Banyak bakteri tidak dapat tumbuh dalam media buatan laboratorium. Sebagai contoh adalah bakteri *Mycobacterium leprae* yang hanya dapat tumbuh di dalam binatang armadillo. Umumnya laboratorium klinik mempunyai suatu teknik untuk membiakkan bakteri aerob yang membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi atau lebih rendah daripada konsentrasi di udara.

2.3 Media sintetik. Digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang akan digunakan harus mengandung faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Pertumbuhan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji. *Lactobacillus* merupakan salah satu contoh organisme yang banyak menumbuhkan faktor pertumbuhan.

2.4 Media selektif dan diferensial. Digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif digunakan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan, contohnya media *Bismuth Sulfite Agar*. Media diferensial digunakan untuk membedakan koloni bakteri yang tidak diinginkan yang tumbuh pada lempeng media yang sama. Contoh media selektif dan diferensial adalah media VJA (*Vogel- Johnson Agar*).

2.5 Media pengayaan. Digunakan untuk pengayaan biakan bakteri dan dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan. Media ini memiliki bentuk berupa cair yang hampir sama dengan media selektif.

2.6 Media anaerob. Bakteri anaerob yang ditanam di media spesial disebut dengan reducing media yang mengandung natrium tioglikolat. Media ini sebelum digunakan untuk bakteri dipanaskan secara perlahan yang bertujuan menghilangkan oksigen yang terserap. Inkubasi bakteri anaerob menggunakan bejana anaerob yang kemudian diinokulasikan dalam media agar dalam cawan petri.

I. Sterilisasi

Sterilisasi didesain khusus untuk dapat membunuh atau menghilangkan mikroorganisme. Target suatu media inaktivasi tergantung dari metode dan tipe mikroorganismenya, yaitu tergantung dari asam nukleat, protein, atau membran mikroorganisme tersebut (Pratiwi 2008).

Cara sterilisasi paling umum yang dilakukan adalah sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar alfa, sinar-X, sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara mekanik dengan menggunakan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat dari proses pemanasan tinggi. Sterilisasi secara kimia dapat menggunakan desinfektan, larutan alkohol dan larutan formalin (Darmandi 2008).

J. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri yang hidup sebagai flora normal pada kulit manusia. *Staphylococcus aureus* termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif. *Staphylococcus aureus* adalah jenis bakteri yang patogen pada kulit dan saluran pernafasan atas yang dapat menyebabkan infeksi. Contoh kelainan kulit yang dapat ditimbulkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu impetigo dan folikulitis (Radji 2011).

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Menurut Levinson (2004) klasifikasi *Staphylococcus aureus* yaitu :

Divisi : Protophyta
 Classis : Schizomycetes
 Ordo : Eubacteriales
 Familia : Micrococcaceae
 Genus : Staphylococcus
 Species : Staphylococcus aureus

2. Morfologi dan fisiologi

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang termasuk dalam famili Micrococcaceae. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki bentuk bulat dan jika dilihat secara mikroskopik koloni dari bakteri *Staphylococcus* seperti buah anggur yang bergerombol. Spesies bakteri *Staphylococcus aureus* akan menghasilkan pigmen yang berwarna kuning keemasan. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen. *Staphylococcus aureus* sering ditemukan koloni di kulit dan saluran hidung (Radji 2011).

3. Identifikasi

Staphylococcus aureus termasuk dalam golongan bakteri Gram positif yang memiliki bentuk bulat. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki diameter kira-kira 0,8-1,0 mikron, tidak menghasilkan spora dan tidak bergerak. Uji katalase pada bakteri *Staphylococcus aureus* disimpulkan bakteri ini mempunyai sifat katalase positif. Uji katalase dapat dilakukan dengan cara menambahkan hidrogen piroksida 3% pada koloni yang tumbuh dalam lempeng agar atau agar miring. Media agar yang digunakan kecuali media agar darah karena agar darah

sudah mengandung katalase. Biakan koloni menghasilkan oksigen dan gelembung yang mengartikan biakan koloni ini bersifat katalase positif (Radji 2011).

4. Metabolit bakteri

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan berbagai penyakit dan dapat meluas ke dalam jaringan tubuh melalui berbagai macam zat ekstraseluler seperti toksin dan enzim. Berbagai enzim dan toksin yang dihasilkan bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Radji tahun 2011 adalah :

4.1 . Koagulase. Enzim ini memiliki faktor koagulase yang reaktif dalam serum yang dapat mengumpalkan oksalat plasma atau sitrat plasma. Faktor koagulase reaktif ini akan bereaksi dengan enzim koagulase menghasilkan esterase dan menyebabkan peningkatan aktivitas pengumpulan deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat proses fagositosis bakteri.

4.2 Lipase dan tributirinase. Tributirinase merupakan suatu enzim yang dapat memisahkan lemak dalam kaldu sedangkan lipase merupakan enzim yang terutama dihasilkan oleh bakteri koagulase positif, tetapi tidak mempunyai peranan yang spesifik.

4.3 Katalase. Enzim katalase merupakan enzim yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus* dan *Minococcus*. Enzim katalase dapat diketahui dengan cara uji katalase dengan menambahkan larutan hidrogen piroksida 3% pada koloni *Staphylococcus* yang berumur 24 jam dan akan terdapat adanya gelembung udara.

4.4 Antigen permukaan. Antigen ini mempunyai fungsi untuk mencegah reaksi koagulase dan mencegah fagositosis.

4.5 Hialuronidase. Enzim ini dapat dihasilkan oleh koagulase positif dan dapat memudahkan penyebaran bakteri.

4.6 Fibrinolisisin. Enzim ini dapat melisiskan bekuan darah dalam pembuluh darah yang sedang meradang sehingga bagian bekuan yang berisi bakteri akan keluar dan menyebabkan lesi metastastik di tempat lain.

4.7 Gelatinase dan protease. Protease dapat menyebabkan nekrosis jaringan sedangkan gelatinase adalah enzim yang dapat mencairkan gelatin.

4.8 Hemolisin. Hemolisin merupakan eksotoksin dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin, dan delta

hemolisin. Alfa hemolisin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah kelinci, kambing, domba dan sapi dan tidak melisiskan sel darah manusia, menyebabkan nekrosis pada kulit manusia dan hewan. Toksin ini dihasilkan oleh *Staphylococcus* dari hewan sehingga toksin β hemolisin hanya dapat melisiskan sel darah domba dan sapi. Delta hemolisin dapat melisiskan sel darah manusia dan kelinci sedangkan pada domba efek melisiskan rendah.

4.9 Leukosidin. Leukosidin dapat menyebabkan rusaknya sel darah putih pada berbagai jenis binatang. Leukosidin dibagi menjadi 3 tipe yaitu : toksin yang identik dengan alfa hemolisin, toksin yang identik dengan beta hemolisin yang menyebabkan perubahan morfologi sel darah putih kecuali domba, toksin yang hanya merusak sel darah putih manusia dan kelinci dan terdapat pada 40-50% jenis *Staphylococcus*.

4.10 Sitotoksin. Toksin ini dapat mempengaruhi arah gerak sel darah putih dan bersifat termostabil.

4.11 Toksin eksfoliatin. Toksin *Staphylococcus* ini merupakan suatu protein ekstraseluler yang tahan terhadap panas, tetapi tidak tahan terhadap asam dan menyebabkan dermatitis eksfoliatif pada bayi yang baru lahir (*Ritter's disease*), impetigo, dan nekrosis pada kulit.

4.12 Enterotoksin. Toksin ini dapat terbentuk jika bakteri ditanam dalam perbenihan semisolid yang mengandung sebesar 30%. Enterotoksin terdiri dari beberapa protein yang memiliki sifat sebagai berikut: nonhemolitik, nondermonekrotik, nonparalitik, termostabil (dalam air mendidih selama 30 menit), tahan terhadap pepsin dan tripsin.

Enterotoksin merupakan toksin penyebab keracunan makanan yang mengandung hidrat arang dan protein. Masa inkubasi dapat terjadi selama 2-6 jam dengan gejala yang timbul secara mendadak seperti mual, muntah, dan diare. Efek muntah dapat terjadi karena toksin ini merangsang pusat muntah di susunan saraf pusat.

5. Patogenesis

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang paling umum menyebabkan penyakit pada kulit dan jaringan superfisial yang meliputi luka karena terbakar, pustula, koreng, abses, dan juga infeksi pada luka pasca operasi atau luka kecelakaan. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang masuk dalam tubuh dapat menyebabkan penyakit pada organ dalam tubuh seperti pneumonia, meningitis, abses otak dan lain-lain. Bakteri *Staphylococcus aureus* juga dilaporkan dapat menyebabkan infeksi *nosocomial* (infeksi yang didapat dari rumah sakit), hal ini selain dikarenakan adanya resisten terhadap antibiotik, infeksi *nosocomial* akibat bakteri *Staphylococcus aureus* dikarenakan sebagai berikut : Abses kulit (impetigo dan pyoderma) pada awal kelahiran ditandai dengan abses pada puting susu ibu. Infeksi karena luka khususnya setelah menjalani operasi. Gastroenteritis sebagai hasil dari perubahan flora bakteri pada traktus intestinalis (Iskamto 2009).

6. Pengobatan *Staphylococcus aureus*

Uji sensitivitas antibiotik bertujuan untuk memilih antibiotik yang tepat dalam mengatasi infeksi. Antibiotik yang dapat digunakan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* ialah antibiotik penisilin atau derivatnya. Terapi oral dengan penisilin semisistemik, seperti oksasilin atau dikloksisilin, jika pasien alergi terhadap antibiotik golongan penisilin dapat diganti dengan antibiotik eritromisin. Pengobatan parenteral dengan injeksi nafsilin atau oksasilin dianjurkan untuk penderita dengan infeksi *Staphylococcus aureus* yang berat dan sistemik, untuk pasien yang alergi maka dapat diganti dengan vankomisin atau sefalosporin. Pemberian antibiotik juga dapat dilengkapi dengan tindakan pembedahan baik untuk pengeringan abses maupun untuk nekrotomi (Radji 2011).

Amoksisilin merupakan antibiotik golongan penisilin yang memiliki spektrum luas. Antibiotik golongan penisilin bekerja dengan cara menghambat

pertumbuhan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroorganisme. Amoksisilin stabil dalam suasana asam dan dirancang untuk penggunaan oral. Spektrum amoksisilin sama dengan antibiotik ampisilin tetapi untuk shigelosis tidak begitu efektif dibandingkan amoksisilin (Goodman dan Gilman 2007).

K. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu bahan atau senyawa yang secara umum dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan sekelompok bakteri, khususnya yang memiliki sifat patogen terhadap manusia. Sifat toksisitas antibakteri dapat selektif menghambat pertumbuhan bakteri (aktivitas bakteriostatik) (Radji 2010).

1. Prinsip terapi antibakteri

Terapi antibakteri tergantung pada toksisitas yang bersifat selektif, dimana kerja antibakteri atau antibiotik mempengaruhi metabolisme patogen tetapi tidak terhadap penjamu. Pengaruh ini dapat dicapai secara maksimal dengan cara memanfaatkan sifat bakteri yang tidak dimiliki oleh sel manusia, sebagai contoh: pada sel manusia tidak memiliki dinding sel sedangkan sel bakteri memiliki dinding sel. Terapi antibakteri dapat dilakukan dengan menghambat dinding sel bakteri yang cenderung tidak membahayakan penjamu. Pengobatan dengan antibakteri berupa antibiotik yang tepat biasanya cenderung efektif dan aman, meskipun semua antibakteri memiliki potensi menimbulkan efek yang tidak diinginkan, seperti resistensi (Gillespie *et al.* 2009).

2. Mekanisme antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam 5 kelompok yaitu: menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri, mengganggu metabolisme dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri (Pratiwi 2008).

2.1 Penghambatan sintesis dinding sel. Mekanisme antibakteri ini adalah dengan merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri Gram

positif maupun Gram negatif. Contohnya penicilin, sefalosporin, karbapenem, basitrasin, vankomisin, dan isoniasid (INH) (Pratiwi 2008).

2.2 Penghambatan sintesis protein sel bakteri. Aminoglikosida merupakan kelompok antibakteri yang mempunyai mekanisme menghambat sintesis protein. Aminoglikosida merupakan kelompok antibiotik yang gula aminonnya tergabung dalam iktan glikosida. Aminoglikosida berikatan pada subunit 30S ribosom bakteri sedangkan beberapa berikatan dengan subunit 50S ribosom. Antibakteri ini menghambat translokasi peptidil-tRNA dan menyebabkan kesalahan dalam pembacaan m-RNA yang mengakibatkan bakteri tidak bisa mensintesis protein vital untuk pertumbuhan. Contohnya: streptomisin, gentamisin, dan tobramisin (Pratiwi 2008).

2.3 Menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri. Mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap proses transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Contohnya golongan kuinolon dan rifampisin (Pratiwi 2008).

2.4 Menghambat sintesis metabolit esensial. Mekanisme penghambatan sintesis metabolit esensial dapat berupa adanya kompetitor seperti antimetabolit yang merupakan suatu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit dari mikroorganisme, dimana strukturnya menyerupai substrat normal. Contohnya antimetabolit sulfanilamid dan *para-amino benzoic acid* (PABA) (Pratiwi 2008).

2.5 Merusak membran plasma sel bakteri. Adanya suatu gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma sel bakteri dapat menyebabkan penghambatan atau kerusakan kemampuan membran sebagai penghalang (barier) osmosis dan akan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran. Contoh antibakteri pada mekanisme ini adalah golongan polipeptida, seperti polimiksin, nistatin, dan amfoterisin (Pratiwi 2008).

3. Metode pengujian aktivitas antibakteri

Tujuan dari pengujian aktivitas antibakteri yaitu untuk mengetahui potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam suatu larutan terhadap adanya suatu bakteri (Jawets *et al.* 2001). Metode

Pengujian antibakteri yang digunakan dengan dua metode yaitu metode dilusi dan metode difusi.

4. Metode Dilusi

Metode dilusi menurut Pratiwi tahun 2008 dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (*broth dilution*) dan dilusi padat (*solid dilution*). Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan cara membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium yang telah ditambahkan dengan mikroba uji. Nilai KHM ditentukan dengan larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil terlihat jernih. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM kemudian dikultur ulang pada media cair tanpa ditambahkan dengan mikroba uji atau agen antimikroba dan diinkubasi selama 18 – 24 jam, media cair yang terlihat jernih ditetapkan sebagai nilai KBM. Metode dilusi padat sama dengan metode dilusi cair hanya menggunakan media padat (Pratiwi 2008).

Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk membunuh bakteri (Jawetz *et al.* 1986). Kekurangan dari metode dilusi yaitu sampel yang digunakan harus jernih karena jika keruh akan mempersulit pengamatan (Putra 2010).

5. Metode Difusi

Metode difusi dibedakan menjadi dua metode yaitu cara *Kirby Bauer* dan cara Sumuran. Cara *Kirby Bauer*: Metode *difusi disk* (tes *Kirby Bauer*) dilakukan 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 pada permukaan media agar (Pratiwi 2008). Cara sumuran: Metode ini serupa dengan metode *difusi disk*, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi 2008).

Menurut Rostina tahun 2007 metode difusi dapat dievaluasi ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dengan melihat kemampuan ekstrak yang diuji

dengan terbentuknya daerah hambat yang ditunjukkan dengan lingkungan bening disekitar lubang atau cakram yang berisi larutan. Keuntungan dari metode ini adalah lebih ekonomis, sederhana dan mudah dibuat. Kerugian dari metode difusi adalah tidak dapat digunakan untuk semua jenis mikroba misalnya jenis mikroba dengan pertumbuhan lambat ataupun anaerob obligat (DepKes 1999).

L. Landasan Teori

Obat tradisional sudah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu hingga saat ini. Banyak tanaman dipercaya dapat menyembuhkan berbagai penyakit, sebagai contoh yaitu tanaman sirsak dan tanaman jambu biji. Bagian tanaman sirsak mulai dari daun, bunga, buah, biji, sampai kulit batang dan akarnya dapat dimanfaatkan sebagai obat (Mardina dan Ratnasari 2011). Menurut penelitian Sari *et al.* tahun 2010 tanaman sirsak dapat digunakan antibakteri, antivirus, antiparasit, kardiotonik, dekongestan, menurunkan panas, penenang, membasmi kutu, dan digunakan sebagai obat cacing.

Daun sirsak dan daun jambu biji mempunyai manfaat yang sama yaitu dapat digunakan sebagai antibakteri. Kandungan dari daun jambu biji dan daun sirsak secara umum tidak jauh berbeda di antaranya yaitu saponin, alkaloid, tanin dan flavonoid. Penelitian yang lain melaporkan bahwa senyawa dalam daun jambu biji meliputi flavonoid, tanin dan saponin memiliki aktivitas antibakteri (Jennie *et al.* 2014).

Penelitian sebelumnya diketahui bahwa kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun mengkudu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Echerchia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 1000 dengan zona hambat sebesar 22,625 dan 25,5 mm (Sri Sudewi *et al.* 2016). Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki efek penyembuhan terhadap luka yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5% (Jeanly *et al.* 2014).

Penelitian ini diujikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan salah satu bakteri yang hidup sebagai flora normal pada kulit manusia. *Staphylococcus aureus* termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif. Bakteri

Staphylococcus aureus merupakan jenis bakteri patogen pada kulit dan saluran nafas atas yang dapat menyebabkan infeksi (Radji 2011). Pengobatan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dapat digunakan antibiotik golongan penicilin dan derivatnya. Pada pasien yang alergi penicilin dapat diganti dengan antibiotik lain seperti antibiotik golongan eritromisin (Radji 2011).

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Metode ekstraksi yang digunakan untuk pengambilan ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji adalah metode meserasi yang merupakan proses pengestraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (DepKes RI 2000). Proses maserasi dilakukan selama 5 hari. Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan etanol sebagai pelarut didasarkan pada sifat selektifnya dan dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan.

Penelitian ini menggunakan kombinasi daun sirsak dan daun jambu biji yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% yang diharapkan kombinasi ini dapat meningkatkan efektivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari pada dalam bentuk tunggal ekstrak masing-masing daun. Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas bakteri yaitu metode dilusi dengan menggunakan 1 deret tabung yang berisi 12 tabung dengan kadar yang menurun secara bertahap kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk membunuh bakteri (Jawetz *et al.* 1986).

M. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan diatas dapat ditarik suatu hipotesis sebagai berikut :

1. Dapat ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Dapat ditentukan kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang mempunyai aktivitas paling efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yaitu semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan jambu biji (*Psidium guajava* L.). Daun sirsak dan jambu biji diambil dari desa Ngawi, Jawa Timur pada bulan oktober 2017.

Sampel yaitu sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan jambu biji (*Psidium guajava* L.) dengan ciri-ciri daun berwarna hijau tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) beserta kombinasinya.

Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan dan jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel yang telah diklasifikasi dapat dibagi menjadi tiga macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat.

1.1 Variabel bebas merupakan variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu kombinasi dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan jambu biji (*Psidium guajava* L.).

1.2 Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu ditetapkan kualitasnya agar hasil yang akan diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti secara tepat. Variabel

terkendali dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirsak, ekstrak daun jambu biji, kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media, suhu kondisi laboratorium, sterilisasi, kondisi peneliti, dan metode penelitian.

1.3 Variabel tergantung merupakan titik pusat persoalan yang menjadi kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas kombinasi dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang dapat mempengaruhi KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media uji.

3. Definisi operasional variabel utama

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

Kedua, daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah daun yang berwarna hijau yang bebas dari penyakit diambil dari desa Ngawi, Jawa Timur.

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

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

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

Keenam, ekstrak tunggal daun jambu biji adalah hasil maserasi 500 gram serbuk daun jambu biji dengan pelarut etanol 96%.

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

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

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

Kesepuluh, bakteri uji dari penelitian ini yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diambil dari Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

Kesebelas, penentuan aktivitas antibakteri dari ekstrak dengan cara metode dilusi yang pengujian dengan membuat konsentrasi ekstrak tunggal etanol daun sirsak, ekstrak tunggal etanol daun jambu biji dan kombinasi ekstrak etanol 96% daun sirsak dan daun jambu biji dengan perbandingan kombinasi (1:1); (1:3); (3:1) yang diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati dengan melihat taraf kekeruhan.

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

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

Keempatbelas, Dosis efektif adalah konsentrasi paling rendah yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut: alat penggiling, timbangan analisa, oven, ayakan nomor 40, botol coklat, inkas, ose platina, erlemeyer, gelas ukur, cawan porselin, pipet (volume 1 ml dan 0,5 ml), cawan petri, corong pisah, tabung reaksi, kain flanel, inkubator, kapas, corong kaca, lampu spiritus, *wather bath*, *autoclave*, kaca objek, alat *Moisture Balance*, *Rotary evaporator*, plat silika G F254, dan mikroskop.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang berwarna hijau dan masih segar. Medium yang digunakan dalam penelitian ini BHI (*Brain Heart Infusion*), VJA (*Vogel Jhonson Agar*), dan plasma sitrat. Bakteri uji yang digunakan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 96%, larutan *Mayer*, larutan *Dragendorf*, akuadest, kalium tellurite, hidrogen peroksida, pereaksi besi (III) klorida, sitoborat, LB, DMSO 1%, larutan Asam asetat, cat kristal violet, larutan lugol iodine dan safranin.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan simplisia

Daun sirsak dan daun jambu biji diambil dari desa Ngawi, Jawa Timur. Daun sirsak diambil yang berwarna hijau dan daun jambu biji diambil yang berwarna hijau tua pada permukaan atas daun dan berwarna hijau muda permukaan bawah daun. Kedua daun dicuci dengan air yang mengalir sampai bersih yang ditandai dengan tidak adanya debu dan kotoran yang menempel.

2. Determinasi tanaman

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan identifikasi daun sirsak dan jambu biji. Identifikasi ini digunakan untuk memastikan kebenaran sesuai dengan ciri morfologi, makroskopis dan

mikroskopis yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta.

3. Pembuatan serbuk

Pembuatan serbuk dilakukan dengan cara yaitu pertama daun sirsak dan daun jambu biji dicuci dengan air mengalir yang bersih supaya terbebas dari kotoran dan debu. Daun jambu biji dan daun sirsak yang telah cuci bersih kemudian ditiriskan dan dikeringkan dengan oven selama kurang lebih 5 hari. Serbuk menggunakan ayakan nomer 40 sehingga diperoleh serbuk daun sirsak dan daun jambu biji yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun jambu biji

Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun jambu biji dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 95°C dan waktu pengeringan selama 15 menit, kemudian dimasukkan daun sirsak dan daun jambu biji sebanyak 2 gram dalam neraca timbang. Menunggu sampai alat *Moisture Balance* berbunyi menandakan proses sudah selesai. Menghitung susut pengeringan sampai diperoleh bobot konstan atau tidak boleh lebih dari 10%.

5. Pembuatan larutan ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji

5.1 Larutan ekstrak etanol daun sirsak. Serbuk daun sirsak ditimbang sebanyak 500,gram dimasukkan dalam botol coklat dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh disaring, kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C (Sumarni 2010).

5.2 Larutan ekstrak etanol daun jambu biji. Serbuk daun jambu biji 500 gram dimasukkan dalam botol coklat dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh disaring,

kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C (Sumarni 2010).

6. Pembuatan larutan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji

6.1 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji 1:1.

Serbuk daun sirsak 250 gram dan serbuk daun jambu biji 250 gram dimasukkan dalam botol coklat dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh disaring dan dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C (Sumarni 2010).

6.2 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji 1:3.

Serbuk daun sirsak 125 gram dan serbuk daun jambu biji 375 gram dimasukkan dalam botol coklat dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian direndam selama 5 hari dan sesekali digojok. Ekstrak yang diperoleh disaring dan dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C (Sumarni 2010).

6.3 Kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji 3:1.

Serbuk daun sirsak 375 gram dan serbuk daun jambu biji 125 gram dimasukkan dalam botol coklat dengan 3750 ml pelarut etanol 96% perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian direndam selama 5 hari dan sesekali digojok. Ekstrak yang diperoleh disaring dan dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C (Sumarni 2010).

7. Tes bebas etanol daun sirsak dan daun jambu biji

Ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji masing-masing diuji tes bebas etanol dengan cara esterifikasi alkohol, masing-masing daun ditambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan. Tanda tidak terdapat alkohol yaitu jika tidak terdapat bau khas ester dalam ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji.

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun jambu biji

Identifikasi kimia ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat pada dua daun tersebut. Identifikasi

dilakukan metode KLT terhadap senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan yang dibuktikan di Laboratorium MIPA Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Uji flavonoid. Larutan cuplikan dibuat dengan cara maserasi. Menimbang 20 mg ekstrak daun sirsak kemudian dilarutkan dalam etanol 96%. Ekstrak digojok kemudian ditotolkan pada plat kromatografi. Plat dimasukkan dalam bejana pengembang yang telah jenuh dengan fase gerak etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (100:11:11:27). Elusi sampai batas dan angkat kemudian keringkan dengan bantuan kipas angin. Diamati di UV 254nm, sinar UV 366 nm dan disemprot dengan pereaksi sitoborat (Harborne, 1987). Flavonoid akan menunjukkan pemadaman bercak pada UV sedangkan pada UV 366 nm bercak akan berflouresensi kuning gelap, hijau atau biru (Wagner 1984).

Uji alkaloid. Larutan cuplikan dibuat dengan cara maserasi. Menimbang 20 mg ekstrak daun sirsak kemudian dilarutkan dalam etanol 96%. Ekstrak digojok kemudian ditotolkan pada plat kromatografi. Plat dimasukkan dalam bejana pengembang yang telah jenuh dengan fase gerak toluen: etil asetat: dietil amin dengan perbandingan 7:2:1. Elusi sampai batas dan angkat kemudian keringkan dengan bantuan kipas angin. Diamati di UV 254nm, sinar UV 366 nm dan disemprot dengan pereaksi Dragendorff (Sari *et al.* 2010). Alkaloid dibawah sinar UV 254 nm akan terjadi pemadaman bercak, sedangkan pada UV 366 nm bercak akan berflouresensi biru, hijau biru atau ungu. Dan bila disemprot dengan pereaksi Dragendorff bercak akan berwarna coklat atau coklat orange (Lestari dan Yusup 2013).

Uji tanin. Sebanyak 20 mg ekstrak hasil maserasi dilarutkan dengan etanol 96%, kemudian ditotolkan pada plat KLT silika gel G 60 F254 dengan menggunakan mikro kapiler lebih kurang 1 cm dari tepi bawah pelat KLT, kemudian dibiarkan kering. Plat KLT kemudian ditempatkan pada bejana kromatografi yang berisi eluen. Eluen yang digunakan yaitu etil asetat: asam formiat: toluene : air dengan perbandingan 6:1,5:3:0,5. Dielusi sampai garis batas pelat KLT dikeluarkan dari bejana dan dikeringkan, bercak diamati dengan sinar

ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm serta penampak bercak FeCl₃ 1%.

Uji saponin. Sebanyak 20 mg ekstrak dilarutkan dalam etanol 96% kemudian ditotolkan pada plat KLT. Elusi dilakukan dengan kloroform: metanol : air dengan perbandingan 64:50:1. Plat dikeringkan dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Plat disemprot dengan liberman bourchat, dioven pada suhu 110°C selama 10 menit, dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Reaksi positif bila saponin terdeteksi sebagai noda berwarna merah jambu sampai ungu (Santos *et al.* 1978).

9. Sterilisasi

Semua peralatan yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus kertas kemudian disterilkan dengan oven pada suhu 170°C selama 1-2 jam. Media yang akan digunakan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Narfiah 2013)

10. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil 2-3 koloni dan dimasukkan kedalam tabung yang telah berisi 2 ml media BHI kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi diambil 100-200 μ l dimasukkan kedalam tabung berisi 1 ml BHI, diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-5 jam. Suspensi yang didapat diencerkan dengan larutan NaCl 0,9% sampai kerapatan bakteri sama dengan standard Mc. Farland 10⁸CFU/ml (Sari *et al.* 2010). Suspensi diencerkan 1: 1000 untuk pengujian dilusi Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

10.1 Identifikasi bakteri secara makroskopis. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, biakan bakteri diinokulasikan pada medium *Vogel Johnson Agar* yang sudah ditambahkan kalium tellurite 3% selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif menunjukkan warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni berwarna kuning. Hal ini terjadi karena bakteri *Staphylococcus aureus* memfermentasikan manitol menjadi asam dan warna kuning disekitar koloni disebabkan karena adanya indikator phenol red,

sedangkan koloni warna hitam disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* dapat mereduksi kalium tellurite menjadi metalik tellurite.

10.2 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Gelas objek dibersihkan dengan alkohol dan difiksasi diatas api. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dari media dengan ose, kemudian diratakan diatas objek gelas, ditunggu sampai kering atau difiksasi diatas api. Tuangkan larutan kristal violet pada sediaan dan biarkan 1 menit, kemudian dicuci dengan air yang mengalir. Tuangkan larutan lugol iodine dan biarkan selama 1 menit, lalu cuci objek gelas dengan alkohol 96% dengan cara menggoyangkan sambil sedikit dibilas dengan air mengalir hingga warna yang berlebih terbilas. Tuangkan larutan carbol Fuchsin atau safranin dan biarkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air lalu keringkan dan lihat dibawah mikroskop. Hasil positif dari *Staphylococcus aureus* bila sel bakteri berwarna ungu berbentuk bulat berpasangan atau kelompok seperti buah anggur (Supartono 2006).

10.3 Identifikasi biokimia. Identifikasi secara biokimia ada dua uji yaitu uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium cair dengan penambahan 2 tetes hydrogen peroksida 3%. Penambahan hydrogen peroksida akan terurai menjadi H_2 dan O_2 , hasil positif bila terlihat pembentukan gelembung udara disekitar koloni, hal ini karena bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al.* 2001).

Uji koagulase dapat menggunakan gelas objek atau dengan tabung reaksi. Uji katalase dengan tabung reaksi dapat menggunakan plasma darah kelinci dan asam sitrat yang telah diencerkan (1: 5) ditambah 1 ose biakan bakteri yang berumur 24 jam kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C . Diamati adanya penggumpalan setelah 4 jam. Hasil positif bila tabung tes dibalik gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2001). Uji koagulase menggunakan gelas objek digunakan untuk menentukan adanya reaksi koagulase atau *clumping factor*. Cara ini memerlukan plasma darah kelinci dan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam jumlah yang besar (Radji 2011).

11. Pengujian Aktivitas Antibakteri secara dilusi

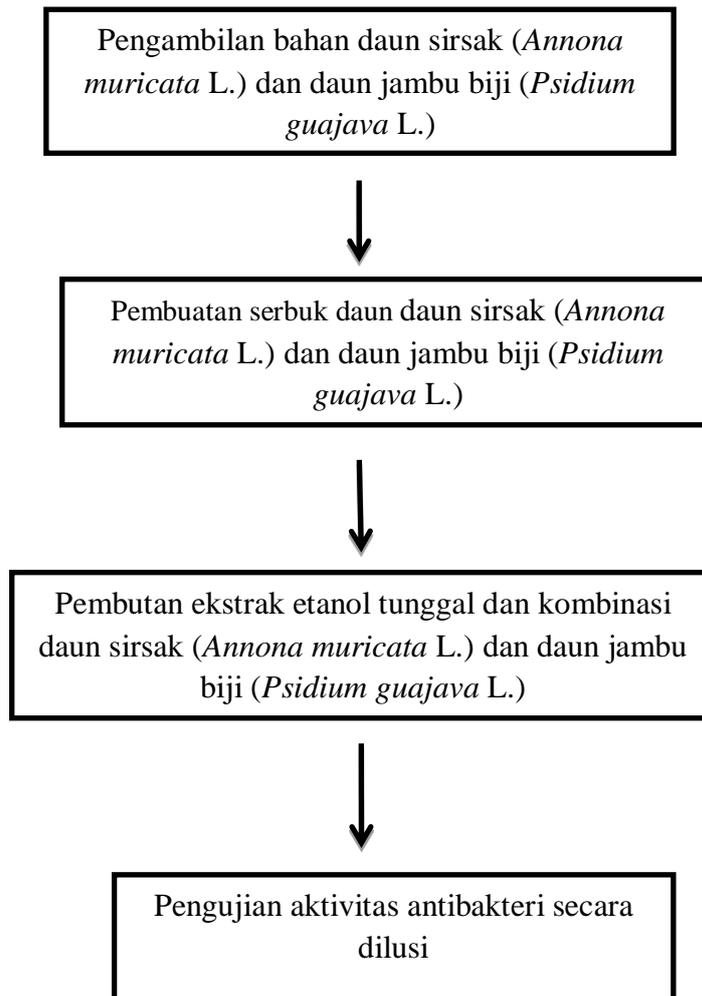
Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dilusi yang bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada sediaan ekstrak. Metode dilusi menggunakan 1 deret tabung yang terdiri dari 12 tabung steril. Metode dilusi menggunakan seri konsentrasi pengenceran mulai dari 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Kontrol positif menggunakan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada tabung terakhir dan kontrol negatif menggunakan ekstrak pada tabung pertama. Masukkan media BHI sebesar 0,5 ml pada tabung ke 2 sampai tabung ke 11 secara aseptis, kemudian masukkan larutan ekstrak sebanyak 1 ml pada tabung ke 1 dan larutan ekstrak sebanyak 0,5 ml pada tabung ke 2 dan tabung ke 3. Selanjutnya pipet sebanyak 0,5 dari tabung 3 dan dimasukkan dalam tabung 4 dan homogenkan hingga merata begitu seterusnya sampai tabung ke 11 lalu dibuang. Kemudian masukkan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebanyak 0,5 ml pada tabung ke 2 sampai tabung ke 11. Kemudian 12 tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yang selanjutnya diamati kekeruhan yang terjadi didalam tabung. Hasil yang diperoleh tidak dapat diamati karena tertutupi oleh kekeruhan yang dikarenakan warna dari ekstrak yang cenderung gelap, sehingga masalah tersebut dapat diatasi dengan melakukan inokulasi pada cawan petri menggunakan media VJA (*Vogel Jhonson Agar*) pada ke semua tabung yang diamati. Inokulasi pada media ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pertumbuhan dari bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Konsentrasi ekstrak yang dapat membunuh bakteri ditandai dengan adanya daerah yang tidak ditumbuhi koloni bakteri. Konsentrasi ekstrak tersebut dikatakan sebagai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum).

E. Analisis Hasil

Analisis hasil yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan membandingkan hasil KHM dan KBM dari ekstrak tunggal daun sirsak, ekstrak

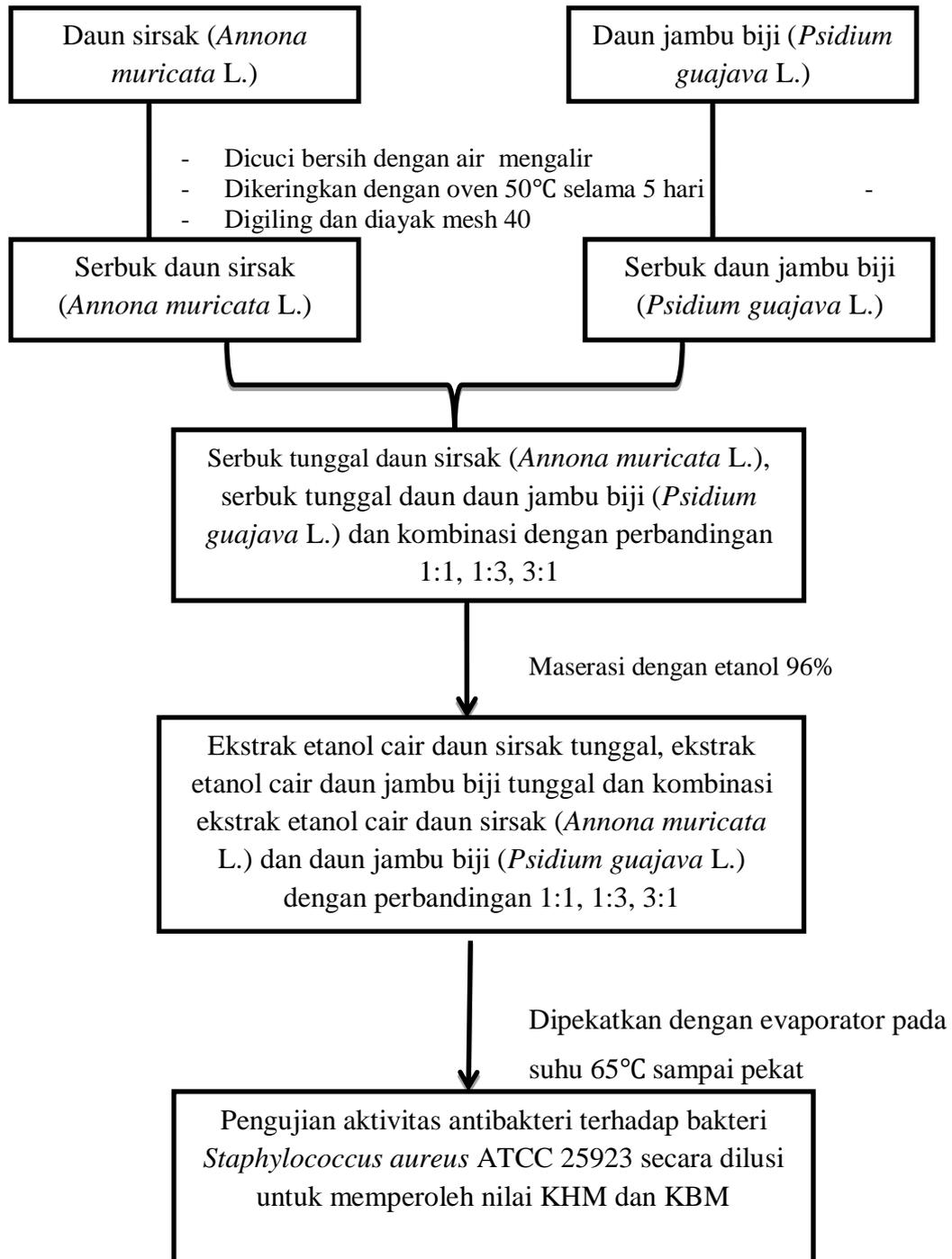
tunggal daun jambu biji, kombinasi ekstrak sirsak dan jambu biji dengan perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA satu jalan.

F. Skema Jalannya penelitian



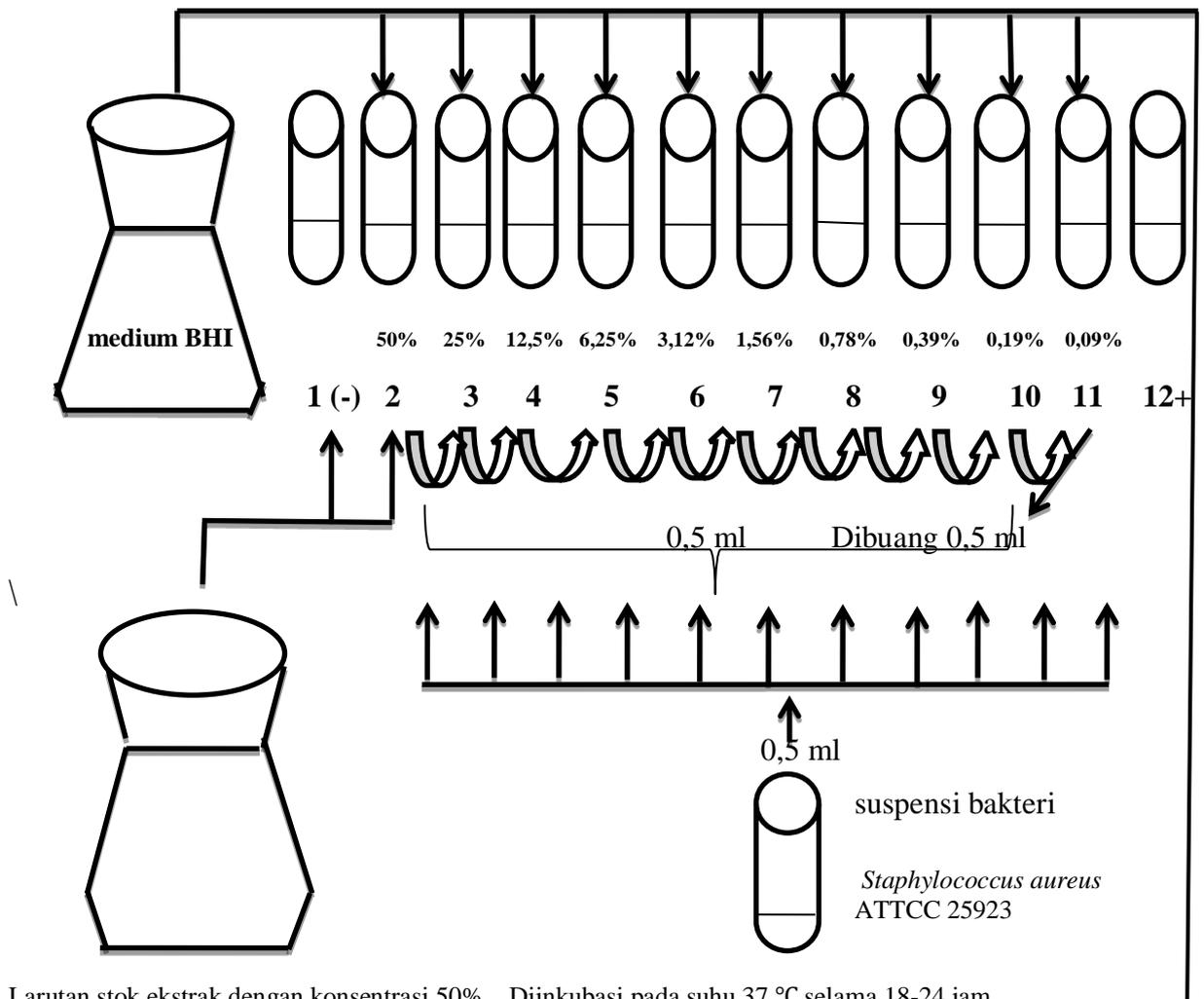
Gambar 3. Skema jalannya penelitian

1. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)



Gambar 4. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

2. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan serbuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)
0,5 ml Medium BHI



Larutan stok ekstrak dengan konsentrasi 50% Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam
 Diamati ada atau tidaknya kekeruhan
 Menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)
 Diinokulasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam
 Tabung yang jernih ditanam dalam media VJA
 Diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*
 Menentukan nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum)

Gambar 5. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan serbuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Penyiapan Bahan Tanaman

1. Determinasi tanaman sirsak dan tanaman jambu biji

Determinasi tanaman pada penelitian ini bertujuan untuk memastikan kebenaran tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) dan tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) sesuai dengan ciri morfologi, makroskopis dan mikroskopis yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta.

Berdasarkan hasil determinasi diketahui bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian ini adalah benar tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) dan tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.). Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan dan pembuatan serbuk daun sirsak dan daun jambu biji .

2.1 Pengumpulan bahan. Daun sirsak dan daun jambu biji yang digunakan dalam penelitian diambil dari daerah Jawa Timur pada bulan oktober 2017 dalam keadaan segar dan daun berwarna hijau muda untuk daun sirsak dan daun jambu biji berwarna hijau tua pada permukaan atas dan berwarna hijau muda pada permukaan bawah daun.

2.2 Pengeringan daun sirsak dan daun jambu biji. Pengeringan dilakukan dengan dua tujuan yaitu untuk mengurangi kadar air pada daun, sehingga tidak ditumbuhi kapang, bakteri atau mikroorganisme lainnya, yang kedua untuk menghentikan reaksi enzimatik zat-zat yang terdapat dalam daun sirsak dan daun jambu biji. Pengeringan dilakukan dalam oven pada suhu 50°C selama 5 hari kemudian dilakukan perhitungan masing-masing presentase bobot kering serbuk terhadap bobot basah daun sirsak dan daun jambu biji dapat dilihat pada tabel 1.

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

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen % ^(b/b)
5.000,00	2.600,00	52

Tabel 2. Hasil persentase bobot basah terhadap bobot kering daun jambu biji

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen % ^(b/b)
4.000,00	2.400,00	60

Hasil bobot basah daun sirsak sebesar 5000,00 gram dan diperoleh bobot kering daun sirsak sebesar 2.600,00 gram. Persentase bobot kering daun sirsak terhadap bobot basah daun sirsak sebesar 52% b/b. Hasil bobot basah daun jambu biji sebesar 4.000,00 gram dan diperoleh bobot kering daun sirsak sebesar 2400 gram. Persentase bobot kering daun sirsak terhadap bobot basah daun sirsak sebesar 60% b/b. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering masing-masing daun dapat dilihat pada lampiran 10.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirak dan serbuk daun jambu biji

Serbuk daun sirsak dan serbuk daun jambu biji masing-masing ditimbang sebanyak 2,000 gram, kemudian susut pengeringan serbuk diukur dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Penetapan kadar lembab daun sirsak dan daun jambu biji dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi.

Hasil penentuan susut pengeringan serbuk masing-masing daun yaitu daun sirsak dan daun jambu biji dengan menggunakan *Moisture Balance*.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan serbuk daun jambu biji

Replikasi	Bobot awal (gram)		Bobot akhir (gram)		Susut pengeringan (%)	
	SR	JB	SR	JB	SR	JB
1	2,000	2,000	1,820	1,810	9,00	9,00
2	2,000	2,000	1,810	1,810	9,40	9,40
3	2,000	2,000	1,810	1,810	9,40	9,40
			Rata-rata		9,27	9,43

Keterangan :

Serbuk SR : serbuk daun sirsak

Serbuk JB : serbuk daun jambu biji

Berdasarkan tabel 3, didapat hasil rata-rata perhitungan susut pengeringan serbuk daun sirsak yang dilakukan tiga replikasi yaitu sebesar 9,27% b/b dan

serbuk daun jambu biji yang dilakukan tiga kali replikasi yaitu sebesar 9,43% b/b. Kedua serbuk yaitu serbuk daun sirsak dan serbuk daun jambu biji masing-masing memenuhi syarat karena presentase susut pengeringan masing-masing serbuk kurang dari 10%. Tujuan susut pengeringan yaitu untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur maupun bakteri. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan serbuk daun jambu biji dapat dilihat pada lampiran 11.

4. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak dan Daun Jambu Biji.

4.1 Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirsak. Serbuk daun sirsak ditimbang sebanyak 5.00,00 gram dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml etanol 96% dan didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog. Maserat disaring dengan kain flannel kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C sehingga menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda. Hasil pembuatan ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil perhitungan kadar rendemen ekstrak daun sirsak

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % (^b / _b)
500,00	68,319	13,7

Berdasarkan tabel 4, persentase rendemen ekstrak maserasi daun sirsak yang diperoleh sebanyak 13,7% b/b. Organoleptis ekstrak warna hijau tua, bentuk kental dan berbau aromatik.

4.2 Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji. Serbuk daun jambu biji ditimbang sebanyak 500,00 gram dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml etanol 96% dan didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog. Maserat disaring dengan kain flannel kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C sehingga menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda. Hasil pembuatan ekstrak dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil perhitungan kadar rendemen ekstrak daun jambu biji

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % (^b / _b)
500,00	62,821	12,6

Berdasarkan tabel 5, persentase rendemen ekstrak maserasi daun sirsak yang diperoleh sebanyak 12,6% b/b. Organoleptis ekstrak warna coklat tua, bentuk kental dan berbau aromatik. Perhitungan kadar rendemen ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun jambu biji dapat dilihat pada lampiran 12.

4.3 Hasil pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan jambu biji 1:1. Serbuk daun sirsak dan serbuk daun jambu biji masing-masing ditimbang 250,00 gram, dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml etanol 96% dan didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog. Maserat disaring dengan kain flannel kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65 °C sehingga menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda. Hasil pembuatan ekstrak dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil perhitungan kadar rendemen kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji 1:1

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % ^(b/b)
500,00	41,890	8,37

Berdasarkan tabel 6, persentase rendemen ekstrak maserasi daun sirsak yang diperoleh sebanyak 8,37% b/b. Organoleptis ekstrak warna hitam pekat, bentuk kental dan barbau aromatik.

4.4 Hasil pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan jambu biji 1:3. Serbuk daun sirsak ditimbang 125,00 gram dan serbuk daun jambu biji ditimbang 375,00 gram, dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml etanol 96% dan didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog. Maserat disaring dengan kain flannel kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C sehingga menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda. Hasil pembuatan ekstrak dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil perhitungan kadar rendemen kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji 1:3

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % ^(b/b)
500,00	105,903	21,2

Berdasarkan tabel 7, persentase rendemen ekstrak maserasi daun sirsak yang diperoleh sebanyak 21,2% b/b. Organoleptis ekstrak warna hitam pekat, bentuk kental dan barbau aromatik.

4.5 Hasil pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan jambu biji 3:1. Serbuk daun sirsak ditimbang 375,00 gram dan serbuk daun jambu biji ditimbang 125,00 gram, dimasukkan dalam botol maserasi dengan 3750 ml etanol 96% dan didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog. Maserat disaring dengan kain flannel kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C sehingga menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda. Hasil pembuatan ekstrak dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil perhitungan kadar rendemen kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji 1:3

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % ^(b/b)
500,00	56,080	11,2

Berdasarkan tabel 8, persentase rendemen ekstrak maserasi daun sirsak yang diperoleh sebanyak 11,2% b/b. Organoleptis ekstrak warna hitam pekat, bentuk kental dan barbau aromatik.

5. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Sirsak, Daun Jambu Biji, dan Kombinasinya

Uji bebas alkohol dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol ekstrak daun sirsak, ekstrak daun jambu biji, dan kombinasi keduanya. Hasil esterifikasi etanol pada masing-masing ekstrak dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun sirsak, ekstrak daun jambu biji, dan kombinasinya

Esterifikasi	Hasil				
	Eks. Daun sirsak	Eks. Daun jambu biji	Kombinasi 1:1	Kombinasi 1:3	Kombinasi 3:1
Alkohol	-	-	-	-	-

Keterangan

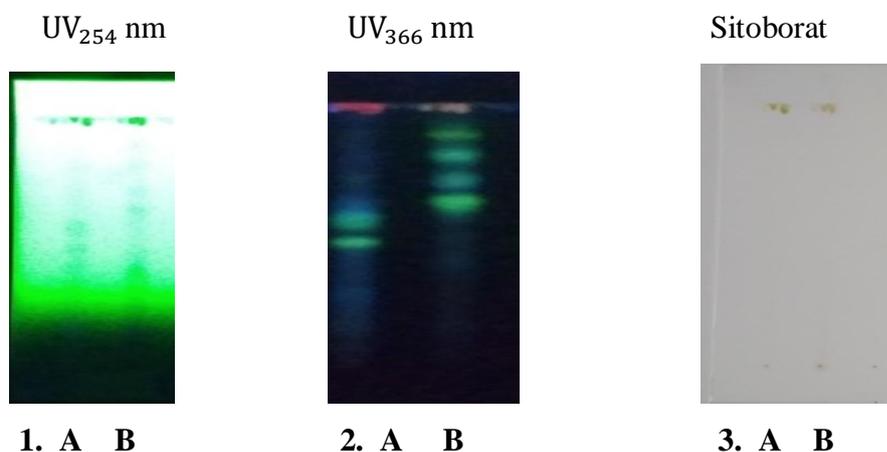
(-) : tidak tercium bau khas alkohol

6. Identifikasi Kandungan Kimia ekstrak Daun Sirsak dan Daun Jambu Biji

Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam kedua daun tersebut dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Identifikasi senyawa dilakukan dengan

menggunakan fase gerak dan penampak bercak yang sesuai dengan senyawa yang diuji.

6.1 Hasil identifikasi KLT senyawa flavonoid.



Gambar 6. Hasil identifikasi flavonoid ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat: asam formiat: asam asetat glassial: air (100:11:11:27)

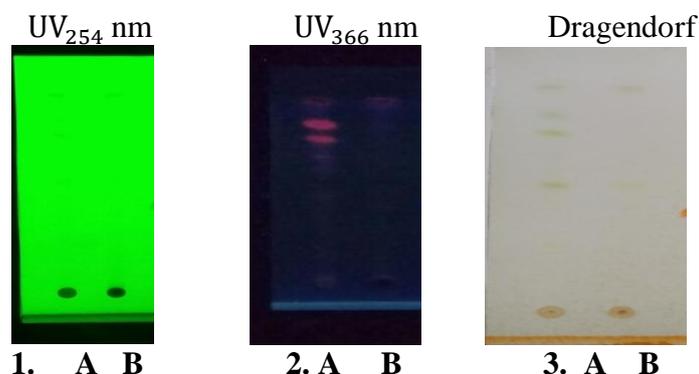
Keterangan :

- A. Bercak daun sirsak
- B. Bercak daun jambu biji

Hasil identifikasi flavonoid menunjukkan floresensi kuning, hijau atau biru pada UV₂₅₄ nm dan pada UV₃₆₆ nm bercak akan berfluoresensi kuning (Wagner dan Bladt 1996). Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah diamati pada sinar UV₂₅₄ nm floresensi hijau, sedangkan pada UV₃₆₆ nm bercak daun sirsak menunjukkan warna biru dan bercak daun jambu biji menunjukkan warna kuning gelap. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji mengandung senyawa flavonoid.

Senyawa flavonoid diduga mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dari sel bakteri, menghambat fungsi dari sitoplasma, dan mengganggu metabolisme energi yang dibutuhkan oleh bakteri sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat. Senyawa flavonoid juga merupakan senyawa fenol yang berfungsi untuk antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein (Sari *et al.* 2010).

6.2 Hasil identifikasi KLT senyawa alkaloid.



Gambar 7. Hasil identifikasi alkaloid ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak toluen: etil asetat: dietil amin (7:2:1).

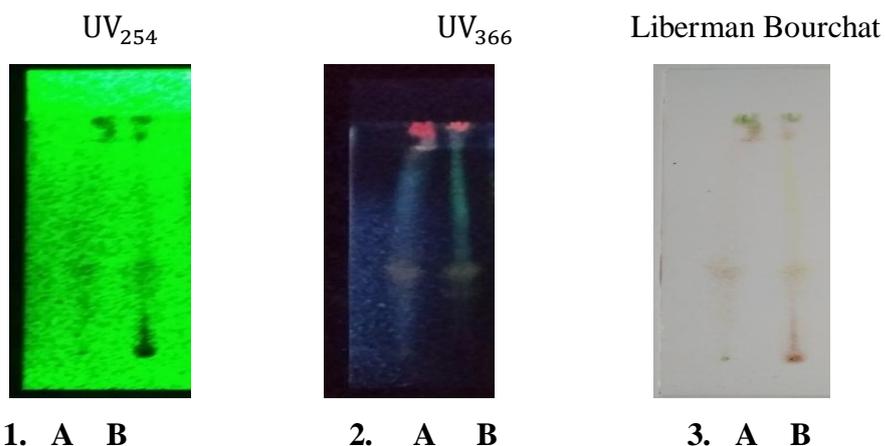
Keterangan :

- A. Bercak daun sirsak
- B. Bercak daun jambu biji

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah lempeng disemprot dengan pereaksi Dragendorff terdapat bercak berwarna jingga. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji senyawa alkaloid.

Mekanisme alkaloid yang diduga sebagai antibakteri adalah alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya membran sel dan akhirnya menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Alamsyah 2014).

6.3 Hasil identifikasi KLT senyawa saponin.



Gambar 8. Hasil identifikasi saponin ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform: metanol : air (64:50:10)

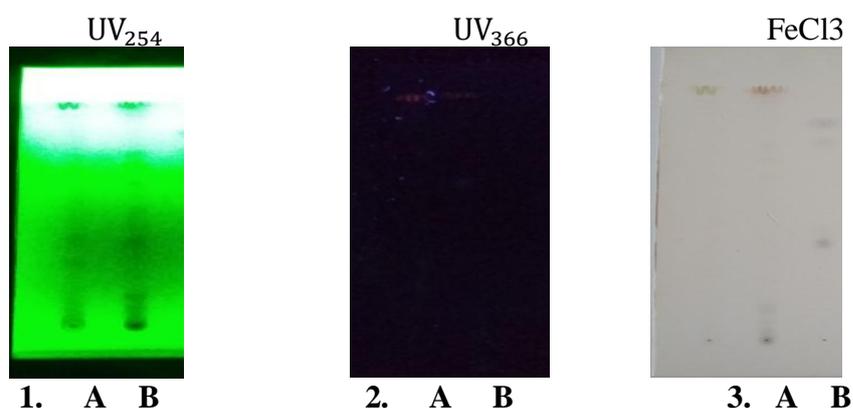
Keterangan :

- A. Bercak daun sirsak
- B. Bercak daun jambu biji

Hasil identifikasi menunjukkan senyawa saponin pada UV_{245} , memberikan warna coklat kehitaman dan berwarna merah muda pada UV_{366} . (Santos *et al.* 1978). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji mengandung senyawa saponin.

Saponin merupakan salah satu senyawa yang terdapat dalam tanaman yang memiliki sifat spersmisida, antimikroba, antiperadangan, dan memiliki aktivitas sitotoksik (Tjay dan Rahardja 2002). Saponin sebagai antibakteri dengan cara membentuk kompleks dengan sterol pada membran plasma sehingga menghancurkan semi permeabilitas sel, yang kemudian mengarah pada kematian sel bakteri (Kumalasari dan Sulistyani 2011).

6.4 Hasil identifikasi KLT senyawa tanin.



Gambar 9. Hasil identifikasi tanin ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji pada fase diam silika gel GF_{254} dan fase gerak etil asetat: asam formiat: toluene : air (6:1,5:3:0,5)

Keterangan :

- A. Bercak daun sirsak
- B. Bercak daun jambu biji

Hasil identifikasi menunjukkan senyawa tanin pada UV_{245} , memberikan warna coklat kehitaman dan berwarna biru pada UV_{366} . (Stahl 1985). Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah diamati dengan UV_{245} dan UV_{366} , menunjukkan warna coklat kehitaman dan biru. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji positif mengandung senyawa tanin.

Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentuk dinding sel menjadi tidak sempurna, hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel akan mati (Ansiah 2014).

B. Pengujian Aktivitas Antibakteri terhadap

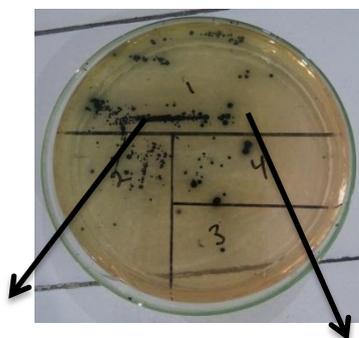
Staphylococcus aureus ATCC 25923.

1. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil 2-3 koloni dan kemudian dimasukkan tabung yang telah diisi 2 ml media BHI kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Suspensi yang didapat diamati kekeruhannya dan distadarkan dengan standard Mc. Farland 10^8 CFU/ml. Suspensi diencerkan sampai 1: 1000 untuk pengujian dilusi. Tujuan dilakukan stadarisasi dengan Mc. Farland yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan dalam penelitian sama dan mengurangi kepadatan bakteri selama pengujian.

2. Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

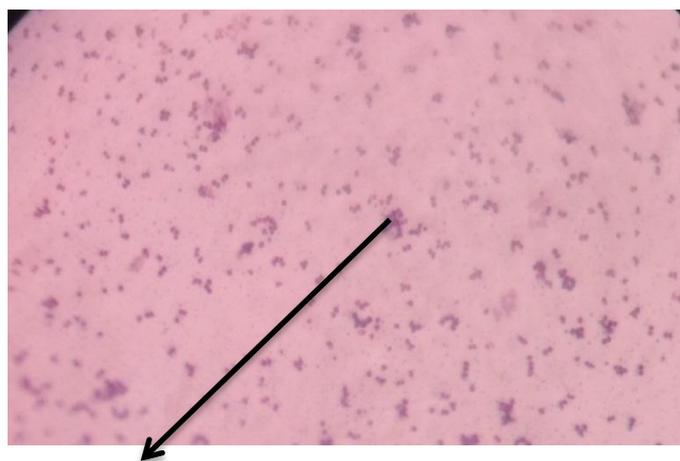
2.1 Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara makroskopis. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, biakan bakteri diinokulasikan pada medium *Vogel Johnson Agar* yang sudah ditambahkan kalium tellurite 3% selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif menunjukkan warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni berwarna kuning. Hal ini terjadi karena bakteri *Staphylococcus aureus* memfermentasikan manitol menjadi asam dan warna kuning disekitar koloni disebabkan karena adanya indikator phenol red, sedangkan koloni warna hitam disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* dapat mereduksi kalium tellurite menjadi metalik tellurite. Gambar hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dapat dilihat pada lampiran 7.



Warna koloni hitam warna media disekitar koloni kuning

Gambar 10. Identifikasi Koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

2.2 Hasil Identifikasi Mikroskopis Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram. Tujuan dilakukan pewarnaan Gram adalah untuk memastikan bahwa bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tersebut termasuk golongan bakteri Gram positif. Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diperoleh hasil dengan sel bakteri berwarna ungu, bentuk bulat bergerombol. Kristal Violet (Gram A) ditetaskan sehingga menyebabkan kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri baik bakteri Gram positif ataupun Gram negatif. Mordant (lugol iodine/Gram B) ditetaskan sehingga menyebabkan terbentuknya ikatan dengan iodine yang akan meningkatkan afinitas peningkatan zat warna oleh seluruh bakteri akan berwarna ungu. Gram C (alkohol 96%) ditetaskan sehingga menyebabkan terbentuknya pori-pori pada Gram positif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga pori-pori sel bakteri mengkerut karena bakteri Gram positif memiliki lapisan yang tebal menyebabkan warna didalam sel bakteri terjebak, hal ini menyebabkan sel Gram positif akan tetap menjadi ungu. Pewarna safranin (Gram D) ditetaskan sehingga sel Gram positif yang awalnya berwarna ungu akan tetap berwarna ungu. Gambar hasil identifikasi mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 7.



berbentuk bulat bergerombol

Gambar 11. Identifikasi Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

2.3 Hasil Identifikasi secara Biokimia. Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara untuk mengidentifikasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi

melalui sifat-sifat fisiologisnya. Identifikasi uji biokimia pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang terdiri dari dua uji yaitu uji koagulase dan uji katalase. Uji koagulase dilakukan dengan cara menginokulasi koloni *Staphylococcus aureus* ke dalam media BHI 2 ml kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35°C. Inokulum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan dan ditambahkan 0,5 plasma kelinci lalu diaduk dan diinkubasi pada suhu 35 °C diamati setelah 4 jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hasil positif bila pada tabung reaksi terdapat gumpalan plasma yang melekat pada dinding tabung (Jawetz et al 2007). Hasil identifikasi uji koagulase pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 7.

Uji katalase menggunakan objek glass. Suspensi bakteri uji yang ditanam pada media cair ditambahkan dengan 2 tetes hydrogen peroksida 3%. Hasil positif bila terlihat pembentukan gelembung gas disekitar koloni. Hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan adanya gelembung udara karena bakteri *Staphylococcus aureus* akan menguraikan $H_2 O_2$ menjadi H_2 dan O_2 . Hasil pengamatan uji biokimia koagulase dan katalase dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Identifikasi secara Biokimia

Jenis uji	Pustaka	Hasil pengamatan
Koagulase	Terbentuk gumpalan plasma	+
Katalase	Terbentuk gelembung gas	+

Keterangan :

+ : positif bakteri *Staphylococcus aureus*

- : negatif bakteri *Staphylococcus aureus*

3. Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi

Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi atau dengan menggunakan seri pengenceran pada larutan uji. Metode ini bertujuan untuk mendapat Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak yang paling poten. Metode dilusi cair merupakan metode yang

terjadi interaksi secara langsung antara larutan uji dengan suspensi bakteri yang tersebar merata dalam media.

Pengujian aktivitas sediaan dari ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi larutan masing-masing 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%; kontrol positif berupa suspensi bakteri dan kontrol negatif berupa ekstrak. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang digunakan diencerkan dalam medium BHI, kemudian dicampur dengan ekstrak tunggal daun sirsak, ekstrak tunggal daun jambu biji, kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji 1:1, 1:3, dan 3:1. Metode dilusi dapat menghasilkan dua data yaitu data Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

3.1 Penetapan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum). Penetapan KHM dilakukan dengan melihat kejernihan dari tabung reaksi yang telah diisi dengan zat uji dan suspensi bakteri. Penelitian ini tidak dapat diamati nilai KHM karena ekstrak yang digunakan dalam pengujian berwarna gelap dan keruh tetapi masalah ini dapat diatasi dengan penetapan nilai KBM.

3.2 Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Penetapan KBM dilakukan dengan cara menginokulasi pada media VJA (*Vogel Jonshon Agar*) yang telah ditambah dengan kalium telurit 3% dengan seri pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Hasil positif ditandai dengan koloni berwarna hitam dan disekitar koloni media berwarna kuning yang menandakan adanya pertumbuhan kononi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabel 11. Hasil uji dilusi ekstrak tunggal daun sirsak (*Annona muricata* L.), ekstrak tunggal daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan kombinasi ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Konsentrasi	Hasil Inokulasi												
	Ekstrak tunggal daun sirsak			Ekstrak tunggal daun jambu biji			Kombinasi Ekstrak 1:1		Kombinasi Ekstrak 1:3		Kombinasi Ekstrak 3:1		
K (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
25%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
12,5%	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
6,25%	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
3,12%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1,56%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,78%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,39%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,19%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,09%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K (+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan

- + : adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- : tidak adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa ekstrak tunggal maupun kombinasi dari ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan 3 kali replikasi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak etanol tunggal daun sirsak adalah 25%, ekstrak etanol tunggal daun jambu biji adalah 6,25%, kombinasi ekstrak etanol 1:1 adalah 25%, kombinasi 1:3 adalah 12,5% dan kombinasi 3:1 dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 50%. Hasil positif yang tampak pada media selektif *Vogel Jonshon Agar* terlihat adanya pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang bercirikan koloni berwarna hitam dengan warna media disekitar bakteri berwarna kuning. Nilai KBM berbanding terbalik dengan nilai sensitivitas bakteri, semakin rendah nilai KBM maka semakin tinggi nilai sensitivitasnya.

Hasil penelitian dapat diketahui bahwa nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) yang dihasilkan ekstrak tunggal daun jambu biji lebih besar daripada ekstrak tunggal daun sirsak. Ekstrak tunggal daun jambu biji lebih efektif dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan nilai KBM sebesar 6,25% sedangkan ekstrak daun sirsak memiliki nilai KBM yaitu sebesar 50%. KBM merupakan konsentrasi terendah dari ekstrak yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri. Hasil kombinasi perbandingan 1:1 terdiri dari satu bagian serbuk daun sirsak dan satu bagian serbuk daun jambu biji didapatkan nilai KBM sebesar 25%. Hasil kombinasi menyebabkan efektivitas ekstrak etanol daun jambu biji turun dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hasil kombinasi 1:3 terdiri dari satu bagian serbuk daun sirsak dan tiga bagian serbuk jambu biji didapatkan nilai KBM sebesar 12,5%. Perbandingan kombinasi 1:3 merupakan kombinasi paling efektif di antara dua kombinasi yang lain dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, tetapi jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal jambu biji efektivitasnya lebih kecil. Hal ini ditunjukkan dengan nilai KBM ekstrak tunggal daun jambu biji adalah 6,25%. Kemampuan bunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dihasilkan oleh ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji dapat dipengaruhi oleh adanya senyawa antibakteri seperti tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, dan acetogenins. Senyawa dalam ekstrak daun sirsak menurut Sumantri *et al.* tahun 2014 yang bermanfaat sebagai pengobatan adalah senyawa acetogenins. Senyawa acetogenins adalah senyawa *polyketides* dengan struktur 30-32 rantai karbon tidak bercabang pada gugus *5-methyl-2-furanone* (Luciana 2010). Senyawa poliketida banyak digunakan dalam berbagai macam produk dalam bidang farmasi, seperti antibiotik eritromisin. Senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun jambu biji menurut penelitian Harizon *et al.* tahun 2015 yang memiliki aktivitas antibakteri adalah golongan flavonoid terutama jenis senyawa quersetin.

Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dari bakteri, menghambat fungsi dari sitoplasma dan mengganggu metabolisme energi yang dibutuhkan oleh bakteri sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Sari *et al.* 2010). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh John senyawa turunan flavonoid yang terkandung dalam daun jambu biji adalah quersetin. Quersetin merupakan senyawa golongan

flavonoid jenis flavonol dan flavon, senyawa ini banyak terdapat pada tanaman famili Myrtaceae dan Solanacea. Quersetin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menghambat DNA *gyrase* (Chusnie & Lamb 2005)

Senyawa tanin yang bersifat antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Tanin mampu berikatan membentuk kompleks dengan enzim bakteri ataupun substrat, kemudian memasuki sel bakteri melalui dinding sel bakteri (Minasari *et al.* 2016). Tanin merupakan senyawa yang bersifat polar dan memiliki kemampuan dengan berikatan dengan protein melalui jembatan hidrogen pada dinding sel (Maryati *et al.* 2008). Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel (Nuria *et al.* 2009).

Senyawa antibakteri dapat berspektrum luas dan berspektrum sempit, berspektrum luas artinya efektif terhadap bakteri yang bersifat Gram positif dan Gram negatif, sedangkan senyawa antibakteri berspektrum sempit hanya efektif untuk bakteri Gram positif atau Gram negatif saja (Jamaludin 2005). Dari hasil penelitian yang diperoleh, senyawa antibakteri pada ekstrak daun jambu biji berspektrum luas, karena selain mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif, yaitu *Aeromonas hydrophila*, juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* (Ajizah 2004).

Berdasarkan hasil konsentrasi dari metode dilusi dianalisis dengan *One Sample Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat data tersebut terdistribusi normal atau tidak, kemudian diperoleh data yang menunjukkan data terdistribusi normal $>0,142$, sehingga dapat dilanjutkan ke uji *Levene test* untuk mengetahui data sudah homogen atau tidak. Pada uji *Levene test* didapatkan data yang tidak homogen sehingga harus dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis Test*. Hasil uji *Kruskal-Wallis Test* menunjukkan nilai signifikasinya $<0,05$ artinya terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi dan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun jambu biji. Hasil statistik dapat dilihat pada lampiran 16.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa :

1. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tidak dapat diketahui dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) hasil dari kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi yaitu kombinasi 1:1 sebesar 25%, kombinasi 1:3 adalah 12,5% dan kombinasi 3:1 adalah 50%.
2. Ekstrak kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 .
3. Kombinasi dari 1:3 memiliki aktivitas membunuh bakteri paling efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dengan menggunakan metode difusi
2. Membandingkan beberapa metode ekstraksi dan dengan bakteri lain untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang paling efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Bioscientiae*. Volume I, No. 1, Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat.
- Akhyar. 2010. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa* Griff.) terhadap *Vibrio harveyi*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makasar.
- Alamsyah HK et al. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut (J.G Agardh) dari Perairan Pulau Pajang Jepara terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermis*. *Journal Of Marine Research* 3:60-78
- Ansel CH. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Diterjemahkan oleh Farida Ibrahim. Edisi ke-4. Jakarta: UI-Press. Hlm 60-65.
- Ansiah S.W. 2014. Formulasi Sediaan Gel Antiseptic Fraksi Polar Daun Kesum (*polygonum minus* Huds) [Skripsi]. Pontianak : Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Aponno JV et al. 2014. Uji Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn.) terhadap Penyembuhan Luka yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Kelinci (*Orytolagus cuniculus*). UNSRAT 3:3.
- Badan Litbangkes Kemenkes RI, 2011. *Laporan Akhir Riset Fasilitas Kesehatan tahun 2011*, Jakarta
- Bassett J, Debbey RC, Jeffery G.H, Mandaham J.1994. *Buku Ajar Vogel : Kimia Analis Kuantitatif Organik*. Edisi 4. Jakarta: EGC.hlm 228-229.
- Bhagwat, Seema., Haytowitz, D.B., Holden, J.M., 2011. *USD Database of Flavonoid Content of Selected Food*, Nutrient Data Laboratory, Beltsville Human Nutrients Research Center, Agricultural Research Service, U.S Department of Agriculture.
- Benson, H.J., 2002. *Microbiological Applications Edition*, McGraw Hill, New York, 17.
- Brotosisworo. 1978. *Farmakognosi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Chusnie, T.T.P. and Lamb, A.J., 2005, Antimicrobial activity of flavonoid. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26 : 343–356

- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979 . *Farmakope Indonesia*. Edisi ketiga.
- [DepKes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Halm 4-11,25-26.
- [DepKes RI]. 1985. Cara Pembuatan Simplisia. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm 1-14
- [DepKes RI]. 1999. *Good Laboratory Practices*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia . 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I. Jilid 2*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 313-314.
- Ditjen PO, Depkes RI. 2000.*Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9-11-16.
- Farmakope Herbal Indonesia EDISI I 2008. Kesehatan Republik Indonesia Suplemen II
- Goodman A, Gilman H. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi kesepuluh. Volume 1. Jakarta: EGC. Hal 682-684.
- Gillespie S, Kathleen Bamford. 2009. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Edisi ketiga , penerjemah; dr.Stella TH, editor. Rina A dan Amelia S. Terjemahan dari: *Medical Microbiology and Infection at a Glance*.
- Gunawan D. dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Hapsoh dan Hasanah, Y ., 2011. *Budidaya Tanaman Obat dan Rempah*. Medan: USU Press.
- Hariana A. 2013. *Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta : Pustaka populer obor
- Hasmila I, Amaliah, Muhammad D. 2015.Efektivitas Salep Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L) pada Mencit yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*.
- Harborne, 1987. Metode Fitokimia: *Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Padmawinata, K.& I. Soediro (penerjemah): Bandung Penerbit ITB.

- Harizon et al. 2015. Kuersetin dan Kuersetin-3-*O*-Glukosida dari Kulit Batang *Sonneratia Alba* (Lythraceae). *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*
- Herbie. T. (2015). *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta : Octopus Publishing House.
- Hertog, Michael G.L., Peter C.H. Hollman and Martijn B. Katan. (1992b). *Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Commonly Consumed in The Netherlands*. *J. Agric. Food Chem* (40): 2379-2383
- Ismail, M., MinhasPs, FathimaK, Sahana VM & Sowmya C. (2012). Antibacterial Activity of Leaves Extract of guava (*Psidium guajava*). *Internasional Jounal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*,3:1 2.
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*. Karangayar: Penerbit yayasan lingkungan hijau.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Ed ke-16. Gerard Bonang, penerjemah; EGC. Hlm 239,241-243. Terjemahan dari : *Review of Medical Mikrobiology*.
- Jawetz E, Melnick dan Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXII*. Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.
- Jawetz, Z., Melnick dan Adelberg's. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba.Medika, Jakarta.
- Katzung, B. G., 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi XIII. Buku 3. Translation of Basic and Clinical Pharmacology Eight Edition Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika
- Kintzios, S.E and Maria G.B.,2010, *Plants That Fight Cancer*.
- Kumala E, Sulistyani N. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 1(2): 51-62,59-60.
- Jennie, Djaja R, Lusiana D. 2014. Perbandingan Aktivitas Antiakteri Infusa Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dengan Daun Salam (*Eugenia polyantha* [Wight.] Terhadap *Staphlococcus aureus* Secara *in vitro*: Bandung.

- Leman et al. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. UNSRAT : Manado.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloid*. Karya Ilmiah, Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Lestari T, Yusup Sidik. 2013. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Ekstrak Air Kulit Batang Kelapa Gading (*Cocos nucifera* var. *eburnea*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*: Tasikmalaya
- Levinson W. 2004. *Medical Microbiology & Immunology*, Examination & Board review, 8th edition, McGraw-Hill. New York.
- Luciana, AR. 2010. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais. MG, Brazil. Page 2
- Mardiana L dan Ratnasari, J. 2011. *Ramuan dan Khasiat Sirsak*. Penerbit Pen"ebar Swadaya. Jakarta.
- Marliana SD, Venty Suryanti, Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Jurusan Biologi FMIPA UNS: Surakarta
- Minasari, Sri A, Jojor S. 2016. Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji Buah Putih terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dari abses. *Makasar Dent J* 5: 34-39
- Nafiah. 2013. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Asam Laktat Dalam Soyghurt dan Efektifitasnya Pada Penyembuhan Gastritis Lambung Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi dengan Aspirin. Program Pascasarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara : Medan.
- Nuria, MCA, Fauzatun., dan sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha cuircas* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherchia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*, 5:26-37.
- Pramono S., Katno. 2006. *Tingkat Manfaat dan keamanan Tanaman Obat Tradisional*. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
- Putra A.B.W. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap *Propionibacterium acne*, *Escherichia*

- coli* dan *Staphylococcus aureus* Serta Uji Bioautografi (Skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Radji M.2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Radji M.2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta:Penerbit buku kedokteran EGC.
- Rostina. 2007. Uji Aktivitas Hasil Penyarian Biji Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) terhadap Beberapa Mikroba Penyebab Infeksi Kulit, Karya Ilmiah Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Sambou C.N et al. 2017. Pengembangan Produk Sediaan Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak *Annona Muricata* L.) dengan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) Sebagai Antibakteri Penyebab Jerawat (*Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus epidermidis*)
- Santos, A.F., B.Q. Guevera, A.M. Mascardo, and C.Q. Estrada. 1978. *Phytochemical, Microbiological and Pharmacological, Screening of Medical Plants*. Manila: Research Center University of Santo Thomas
- Sari Y.D et al. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Secara *in vitro* terhadap *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia Coli* ATCC 35218 serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. Kesmas. UAD. ISSN. 1978-0575, Yogyakarta.
- Stahl, E., 1985, Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 3-17, ITB, Bandung
- Sumarni. 2010. Daya Hambat Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Papua .
- Sunarjono H. 2005. Sirsak dan Srikaya: *Budidaya untuk Menghasilkan Buah Prima*. Penebar Swadaya: Depok.
- Sudewi S, Widya AL. 2016. Kombinasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dalam Menghambat Bakteri *Echerchia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
- Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Supartono, 2006. Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* pada Organ Dalam Hewan dan Bahan Makanan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Bogor.

- Stahl E. 1985. Identifikasi dan Uji Antibiotik Bakteri Gram-negatif Pada Sampel Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK). [Skripsi]. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Papua Manokwari.
- Tjay, Tan Hoan dan Raharja, Kirana. (2002), *Obat-Obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi Keenam, 262, 269-271, PT. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Wagner, H., Badt, S., 1996. *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas 2nd Ed.*, Springer Verlag, Berlin. Pp 195-197.

L

Æ

Œ

Ɔ

Ɔ

Ɔ

Æ

Œ

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman



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

Nomor : 199/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Nur Dyah Kumalasari
NIM : 20144145A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

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

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

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

10. Annonaceae
27. *Annona*
Annona muricata L.

Deskripsi Tumbuhan :

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

Surakarta, 9 Oktober 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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





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

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

Nomor : 200/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Nur Dyah Kumalasari
NIM : 20144145A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Psidium guajava* L.
Familia : Myrtaceae

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

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34b-333b-334b-335a-336b-345b-346b-348b-349a-350b-351a-352a 84. Myrtaceae
1a-2b-3a-4a 2. Psidium
1a-2a Psidium guajava L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitat: perdu atau pohon, menahun, tegak, tinggi 3-10 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor hingga kuning kotor. Batang : bulat, berkayu keras dan padat, bercabang banyak, arah tumbuh cabang condong ke atas, coklat muda atau coklat keabu-abuan, kulit batang mengelupas. Daun : tunggal, berhadapan, bulat panjang atau bulat oval atau jorong, panjang 5-15 cm, lebar 3-6 cm, ujung tumpul atau runcing, pangkal membulat, tepi rata, daging daun seperti perkamen, mengkilat atau kusam, agak berambut ketika muda dan gundul ketika dewasa, hijau tua pada permukaan atas dan hijau muda pada permukaan bawah, pertulangan menyirip; tangkai daun silindris, tidak menebal pada bagian pangkalnya, panjang 3-7 mm. Bunga: majemuk, 1-3 bunga, di ketiak daun; kelopak berbagi 2-5 cuping, panjang cuping kelopak 7-10 mm, tepi kelopak sebelum mekar berlekatan menjadi bentuk cawan, hijau tua; daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 1.5-2 cm, putih; benangsari berjumlah banyak, berwarna putih; bakal buah tenggelam, 4-5 ruangan; bakal biji banyak. Buah : buni, bulat atau bulat lonjong atau seperti buah pir, panjang 5-8.5 cm, daging buah putih atau merah, masih muda kulitnya berwarna hijau setelah tua berwarna kuning muda mengkilap. Biji : banyak, berbelah dua, keras, putih.

Surakarta, 9 Oktober 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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



Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

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

Lampiran 2. Foto daun sirsak dan daun jambu biji



Foto daun sirsak



Foto daun jambu biji

Lampiran 3. Foto serbuk daun sirsak dan daun jambu biji

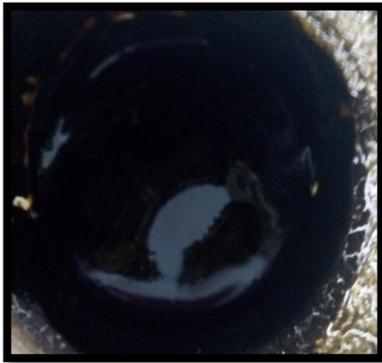


Serbuk daun sirsak



Serbuk daun jambu biji

**Lampiran 4. Ekstrak kental daun sirsak, ekstrak kental daun jambu biji,
dan kombinasi ekstrak**



**a. Ekstrak kental daun SR tunggal
tunggal**



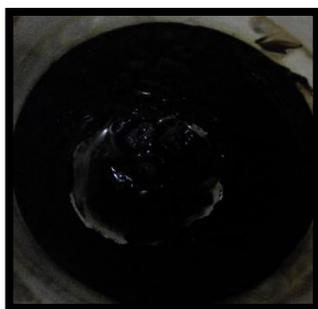
c. Ekstrak kental daun JB



a. Kombinasi Ekstrak 1:1



e. Kombinasi Ekstrak 1:3



a. Kombinasi Ekstrak 3:1

Lampiran 5. Foto alat evaporator, botol meserasi, moisture balance, dan oven.



A. Foto evaporator



C. Foto moisture balance



B. Foto oven



D. Foto botol maserasi

Lampiran 6. Foto autoclave, inkas, penggiling simplisia, dan inkubator



A. Foto autoclave



B. Foto Inkas

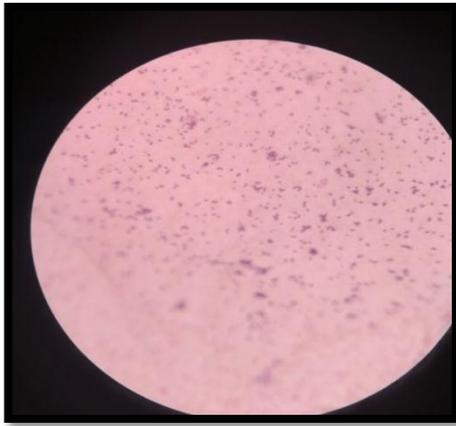


C. Foto Inkubator

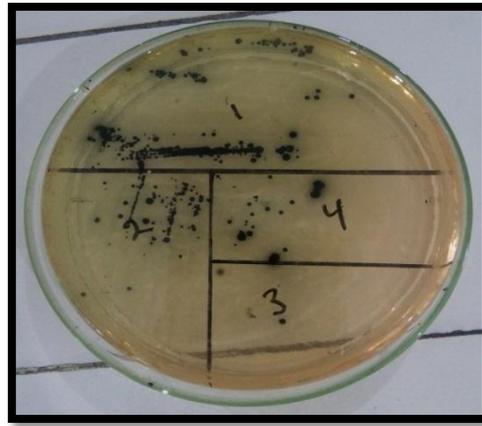


D. Foto alat penggiling simplisia

Lampiran 7. Foto hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimia



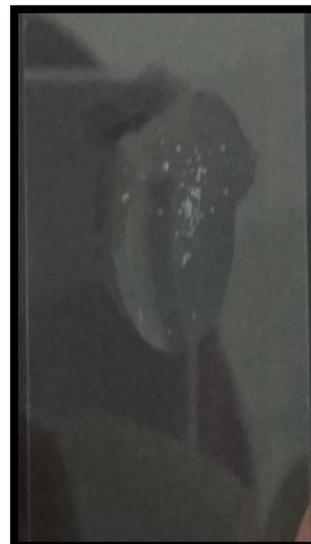
Identifikasi mikroskopis



identifikasi makroskopis



Uji koagulase



uji katalase

Identifikasi biokimia

Lampiran 8. Foto larutan stok untuk uji dilusi dengan konsentrasi 50%

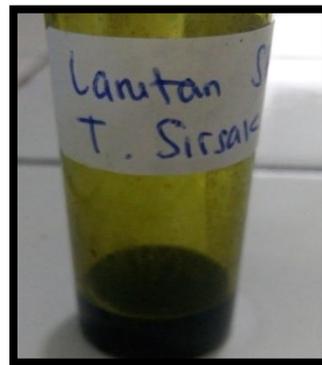
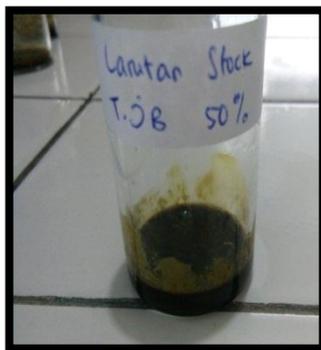


Foto larutan stok ekstrak jambu biji

Foto larutan stok ekstrak sirsak

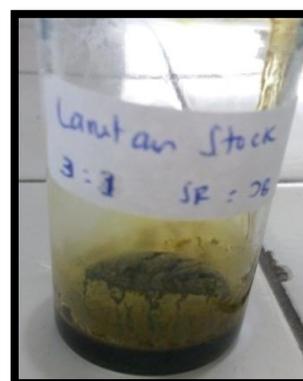
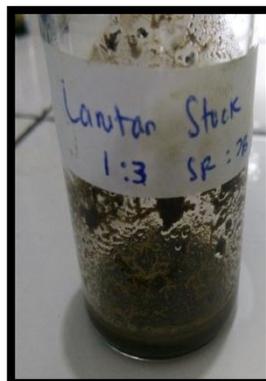
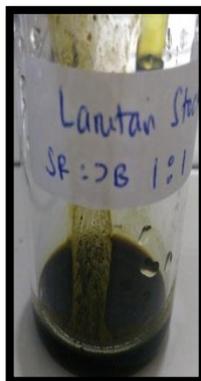


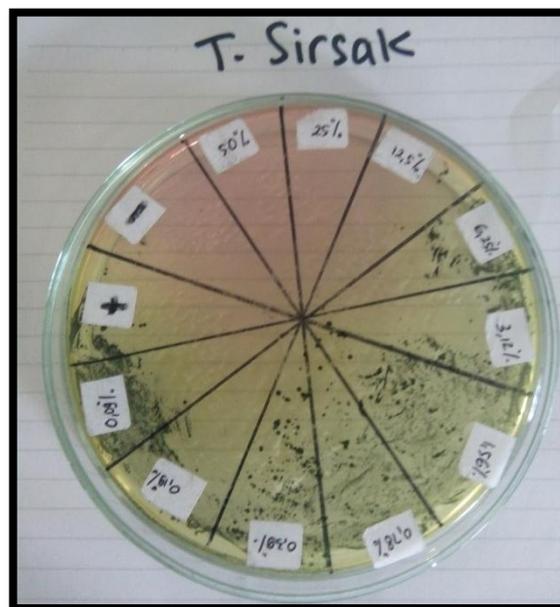
Foto larutan stok kombinasi ekstrak sirsak dan jambu biji 1:1;1:3;3:1

Lampiran 9. Foto hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun jambu biji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi

A. Foto aktivitas antibakteri ekstrak tunggal daun sirsak



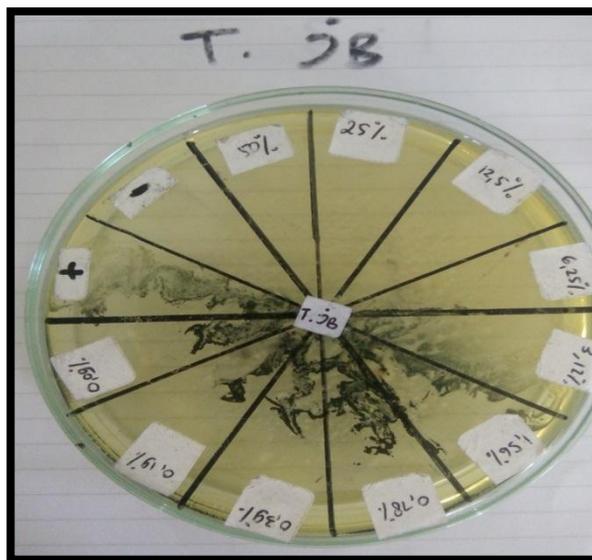
B. Hasil inokulasi dilusi ekstrak tunggal daun sirsak



C. Foto aktivitas antibakteri ekstrak tunggal daun jambu biji



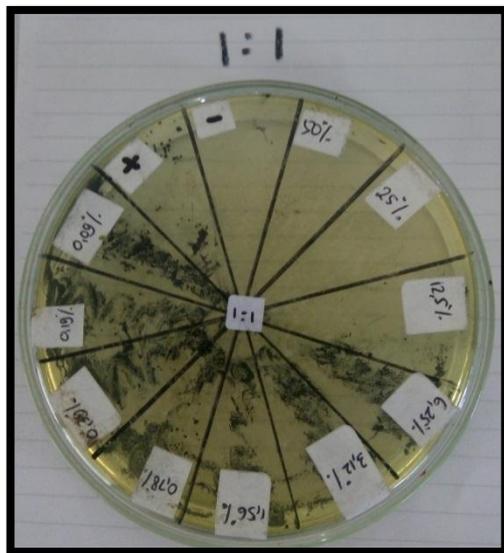
D. Hasil inokulasi dilusi ekstrak tunggal daun jambu biji



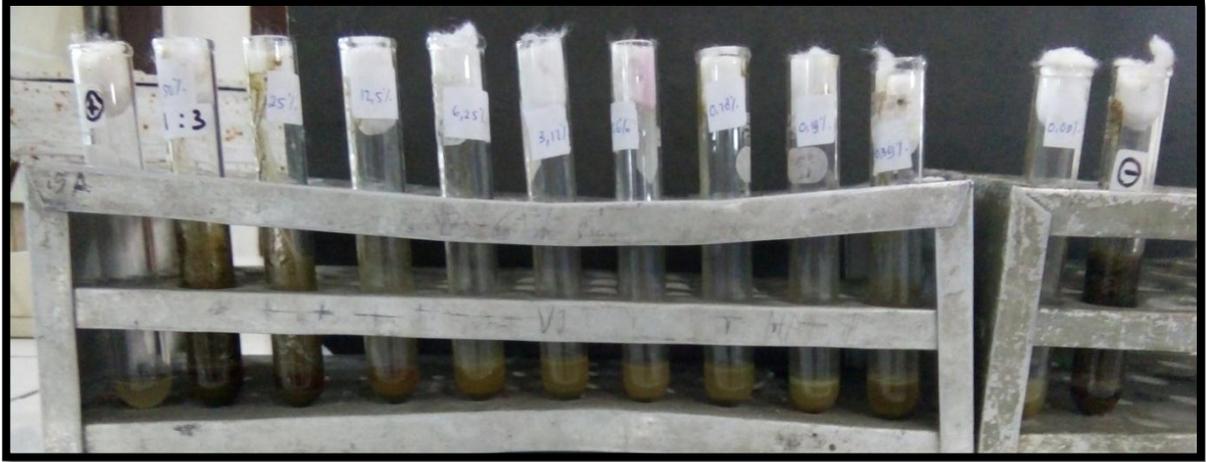
E. Foto aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak sirsak dan ekstrak daun jambu biji 1:1



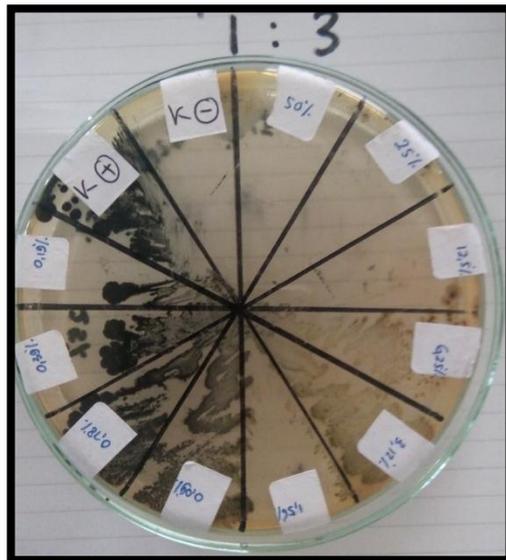
F. Hasil inokulasi dilusi kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun jambu biji 1:1



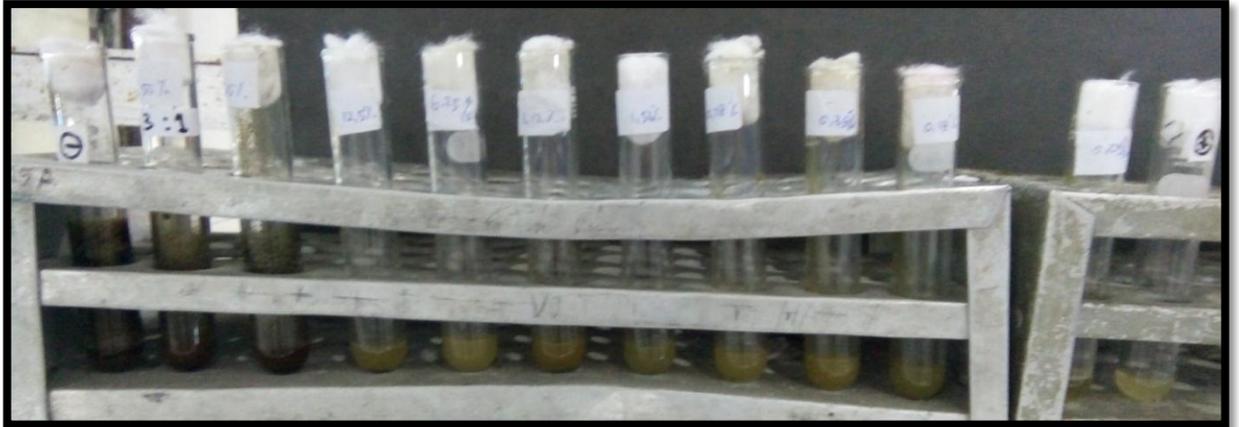
G. Foto aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak sirsak dan ekstrak daun jambu biji 1:3



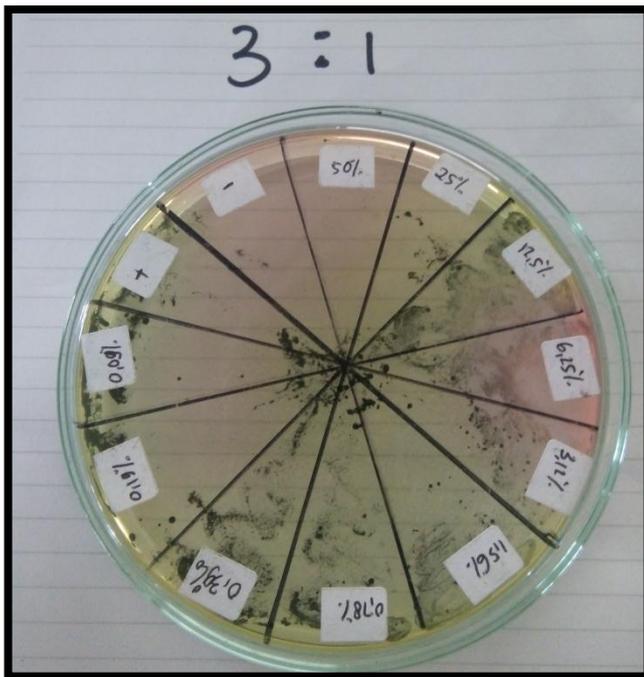
H. Hasil inokulasi dilusi kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun jambu biji 1:3



I. Foto aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak sirsak dan ekstrak daun jambu biji 3:1



J. Hasil inokulasi dilusi kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun jambu biji 3:1



**Lampiran 10. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering
serbuk daun sirsak dan daun jambu biji**

Persentase bobot basah terhadap bobot kering serbuk daun sirsak

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen %^(b/b)
5.000,00	2.600,00	52

Persentase bobot basah terhadap bobot kering serbuk daun jambu biji

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen %^(b/b)
4.000,00	2.400,00	60

Perhitungan bobot basah terhadap bobot kering sebagai berikut :

$$\text{Rendemen b/b \%} = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen daun sirsak b/b\%} = \frac{2600,00}{5000,00} \times 100\% = 52\%$$

$$\text{Rendemen daun jambu biji b/b\%} = \frac{2400,00}{4000,00} \times 100\% = 60\%$$

**Lampiran 11. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak
dan daun jambu biji**

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak

Replikasi	Bobot awal (gram)		Bobot akhir (gram)		Susut pengeringan (%)	
	SR	JB	SR	JB	SR	JB
1	2,000	2,000	1,820	1,810	9,00	9,00
2	2,000	2,000	1,810	1,810	9,40	9,40
3	2,000	2,000	1,810	1,810	9,40	9,40
				Rata-rata	9,27	9,43

Jadi persentase rata-rata susut pengeringan serbuk daun sirsak dan serbuk daun jambu biji adalah 9,27% dan 9,43%.

Lampiran 12. Perhitungan kadar rendemen ekstrak daun sirsak, ekstrak daun jambu biji dan kombinasi keduanya

a. Perhitungan Kadar Rendemen Ekstrak Daun Sirsak

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % ^(b/b)
500,00	68,319	13,7

$$\% \text{ Rendemen daun sirsak} = \frac{68,319}{500,00} \times 100\% = 13,7\%$$

b. Perhitungan Kadar Rendemen Ekstrak Daun Jambu Biji

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % ^(b/b)
500,00	62,821	12,56

$$\% \text{ Rendemen daun sirsak} = \frac{62,821}{500,00} \times 100\% = 12,56\%$$

c. Perhitungan Kadar Rendemen Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dan Jambu Biji 250:250

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % ^(b/b)
500,00	41,890	8,3

$$\% \text{ Rendemen daun sirsak} = \frac{41,890}{500,00} \times 100\% = 8,3\%$$

d. Perhitungan Kadar Rendemen Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dan Jambu Biji 125:375

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen % ^(b/b)
500,00	105,903	21,2

$$\% \text{ Rendemen daun sirsak} = \frac{105,903}{500,00} \times 100\% = 21,2\%$$

e. Perhitungan Kadar Rendemen Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dan Jambu Biji 375:125

Bobot serbuk (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen %(^b/_b)
500	56,080	11,2

$$\% \text{ Rendemen daun sirsak} = \frac{56,080}{500,00} \times 100\% = 11,2\%$$

Lampiran 13. Pembuatan larutan stok uji dilusi dengan berbagai konsentrasi

1. Pembuatan konsentrasi 50%

$$50\% = \frac{50 \text{ gram}}{100 \text{ ml}}$$

$$= \frac{0,5 \text{ gram}}{\text{ml}}$$

2. Konsentrasi 25% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 50\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 25\%$$

3. Konsentrasi 12,5% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 25\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 12,5\%$$

4. Konsentrasi 6,25% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 12,5\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 6,25\%$$

5. Konsentrasi 3,12% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 6,25\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 3,12\%$$

6. Konsentrasi 1,56% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 3,12\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 1,56\%$$

7. Konsentrasi 0,78% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 1,56\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 0,78\%$$

8. Konsentrasi 0,39% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 0,78\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 0,39\%$$

9. Konsentrasi 0,78% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 0,39 = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 0,19\%$$

10. Konsentrasi 0,09% = $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$0,5 \cdot 0,19\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 0,09\%$$

Lampiran 14. Perhitungan larutan fase gerak

1. Flavonoid

Etil asetat: asam formiat: asam asetat: air

100: 11:11:27

- Etil asetat = $\frac{100}{149} \times 5 \text{ ml} = 3,35 \text{ ml}$
- Asam formiat = $\frac{11}{149} \times 5 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$
- Asam asetat = $\frac{11}{149} \times 5 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$
- Air = $\frac{27}{149} \times 5 \text{ ml} = 0,90 \text{ ml}$

2. Tanin

Etil asetat : asam formiat : toluen : air

6: 1,5: 3 :0,5

- Etil asetat = $\frac{6}{11} \times 5 \text{ ml} = 2,7 \text{ ml}$
- Asam formiat = $\frac{1,5}{11} \times 5 \text{ ml} = 0,68 \text{ ml}$
- Toluena = $\frac{3}{11} \times 5 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$
- Air = $\frac{0,5}{11} \times 5 \text{ ml} = 0,41 \text{ ml}$

3. Saponin

Kloroform : metanol : air

- Kloroform = $\frac{64}{124} \times 5 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$
- Metanol = $\frac{50}{124} \times 5 \text{ ml} = 2,0 \text{ ml}$
- air = $\frac{10}{124} \times 5 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$

4. Alkaloid

Toluen : etil asetat : dietil amin

7:2:1

- Toluen = $\frac{7}{10} \times 5 \text{ ml} = 3,5 \text{ ml}$
- Etil asetat = $\frac{2}{10} \times 5 \text{ ml} = 1,0 \text{ ml}$
- Dietil amin = $\frac{1}{10} \times 5 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$

Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media

a. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
Aquadest ad	1000 ml

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam Aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

b. Formulasi dan pembuatan *Vogel-Johnson Agar* (VJA)

Casein enzymic hydrolysate	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
Mannitol	10,0gram
Dipotassium phosphate	5,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

Lampiran 16. Hasil analisis data dengan statistic menggunakan Kruskal-Wallis Test.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	15	27.5000	15.63393	6.25	50.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	27.5000
	Std. Deviation	15.63393
Most Extreme Differences	Absolute	.297
	Positive	.297
	Negative	-.192
Kolmogorov-Smirnov Z		1.150
Asymp. Sig. (2-tailed)		.142

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.828	4	10	.003

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	15	27.5000	15.63393	6.25	50.00
Kombinasi	15	3.0000	1.46385	1.00	5.00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Kombinasi		N	Mean Rank
Konsentrasi	Sirsak	3	9.83
	jambu biji	3	3.67
	1:1	3	8.00
	1:3	3	5.00
	3:1	3	13.50
	Total	15	

Test Statistics^{a,b}

	konsentrasi
Chi-square	10.481
Df	4
Asymp. Sig.	.033

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kombinasi