

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN
SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Staphylococcus aureus***



KARYA TULIS ILMIAH

Oleh :
Eva Setyaningrum
NIM : 15488FA

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2018**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN
SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS TEST OF ETHYL
ACETATE FRACTION OF SOURSOP LEAF (*Annona
muricata* L.) TO GROWTH OF *Staphylococcus aureus***



PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2018

KARYA TULIS ILMIAH

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SIRSAK
(*Annona muricata* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus***

Diajukan oleh :
Eva Setyaningrum
NIM : 15488FA

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji
dan Telah dinyatakan memenuhi syarat/ sah

Pada tanggal: 27 Februari 2018

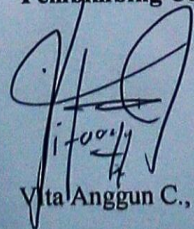
Tim Penguji :

Arti Wahyu Utami, S.Pd., M.Si (Ketua)

Yusianti S, M.Pd (Anggota)

Vita Anggun C., S.Pd., M.Si (Anggota)

Menyetujui,
Pembimbing Utama



Vita Anggun C., S.Pd., M.Si.

Mengetahui
**Ketua Program Studi
DIII Farmasi**



Iwan Setiawan, M.Sc., Apt

PERSEMBAHAN

Karya tulis ini kupersembahkan untuk :

- Tuhanku Allah SWT, atas segala kenikmatan dan kemudahan yang telah diberikan.
- Bapak, Ibu, Nenek dan Adik saya untuk kasih sayang, semangat, perjuangan serta doa yang tak pernah putus.
- Ibu Vita dan Ibu Susi yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing saya dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
- Grup KTI Mikrobiologi (Adit, Ambar, Genta, Inggit, Imania, Nilam, Yoga, Yunidha) atas semangat dan bantuan dari awal sampai akhir.
- Auliya, Nur Hanifah, Risdwita, Shinta, Vika, dan Yulia yang selalu memberi semangat dan bantuan selama proses penyusunan KTI.
- Teman-teman seperjuangan Regular A yang selalu memberi semangat dan berjuang bersama-sama sampai selesai.
- Pak Samuel, Bu Wina, Pak Ridwan, Pak Bowo, Pak Johan atas bantuan selama praktek.
- Rekan-rekan mahasiswa STIKES Nasional Surakarta.
- Serta pihak lain yang tidak mungkin saya sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga Karya Tulis ini dapat terselesaikan dengan baik.

MOTTO

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan” (Q.S. Al-Insyirah: 5-6)

“Dan, Allah menyertai orang-orang yang sabar” (Q.S. Al-Anfal: 66)

“Dan janganlah kamu berputus asa daripada rahmat ALLAH. Sesungguhnya tiada berputus asa daripada rahmat ALLAH melainkan orang-orang yang kufur” (Q.S. Yusuf: 87)

“ALLAH tidak membebani seseorang itu melainkan sesuai dengan kesanggupan” (Q.S. Al-Baqarah: 286)

PRAKATA

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas karunia dan segala nikmat yang telah dilimpahkan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul **AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus***. Tujuan dari penulisan laporan ini yaitu sebagai syarat untuk menyelesaikan Program Pendidikan Diploma III Farmasi di **SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL SURAKARTA**.

Pada kesempatan ini perkenankan penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis untuk dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Ucapan trimakasih penulis kepada:

1. Hartono, M.Si., Apt selaku ketua **SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL SURAKARTA**
2. Vita Anggun C, S.Pd., M.Si. selaku Dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Arti Wahyu Utami, S.Pd., M.Si selaku dewan penguji yang telah memberikan pengarahan dan masukan-masukan yang berguna bagi sempurnanya karya tulis ini
4. Yusianti S, M.Pd. selaku dewan penguji yang telah memberikan pengarahan dan masukan-masukan yang berguna bagi sempurnanya karya tulis ini.

5. Susi Rahmawati, A.md selaku Asisten Dosen yang telah memberikan bimbingan selama pelaksanaan praktikum.
6. Bapak dan Ibu Dosen serta Staf pengajar SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL SURAKARTA yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis.
7. Keluarga terutama Ibu, Bapak, Adik dan Nenek yang slalu memberikan cinta kasih sayang, dukungan, doa dan semangat yang luar biasa selama menyusun Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Laboran dilaboratorium OT dan MIKROBIOLOGI SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL SURAKARTA yang senantiasa membantu dan menemani selama proses praktikum.
9. Sahabat-sahabat yang selalu membrikan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan Karya Tulia Ilmiah ini.
10. Teman-teman SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL SURAKARTA atas dukungan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
11. Semua pihak yang juga memberikan bantuan kepada penulis dalam rangka menyusun Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan menamban pengetahuan di bidang Farmasi.

Surakarta, Februari 2018

Penulis

INTISARI

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit, misalnya jerawat. Daun sirsak mampu mengatasi jerawat. Daun sirsak mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan mengetahui konsentrasi paling baik fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan adalah *disc diffusion* (Kirby & Bauer) dengan seri konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hasil zona hambat yang ditunjukkan dari fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% adalah 7,28 mm; 8,70 mm; 13,23 mm; dan 21,28 mm. Kemampuan penghambatan fraksi etil asetat daun sirsak paling besar pada konsentrasi 100%, dan hampir setara dengan antibiotik gentamisin yang memiliki diameter zona hambat 22,35 mm. Hasil zona hambat yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan metode *kruskal-wallis* dengan nilai signifikan 0,005 ($\alpha \leq 0.05$) sehingga terdapat perbedaan yang signifikan tiap perlakuan. Pada analisis post hoc didapatkan nilai signifikan 0,000 sehingga terdapat perbedaan bermakna antara kontrol dengan masing-masing konsentrasi.

Kata kunci : *Annona muricata* L., *disc diffusion*, fraksi etil asetat, *Staphylococcus aureus*, zona hambat.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a bacteria that can cause skin infections, such as acne. Soursop leaf is able to overcome acne. Soursop leaf contains flavonoids, saponins, tannins, and alkaloids as a potential antibacterial. The aim of this research is to know the antibacterial activity of ethyl acetate fraction of soursop leaf (*Annona muricata* L.) on growth of *Staphylococcus aureus* and to know the best concentration of soursop leaf ethyl acetate fraction (*Annona muricata* L.) in inhibiting *Staphylococcus aureus*. The method used is *disc diffusion* (Kirby & Bauer) with concentration series 25%, 50%, 75%, and 100%. The inhibitory zone results from the ethyl acetate fraction at 25%, 50%, 75%, 100% concentrations is 7,28 mm; 8,70 mm; 13,23 mm; and 21,28 mm. The inhibitory ability of ethyl acetate fraction of soursop leaves is greatest at 100% concentration, and almost equivalent to gentamicin antibiotic which has 22.35 mm inhibition zone diameter. The result of obtained inhibit zone was analyzed by using *kruskal-wallis* method with significant value 0,005 ($\alpha \leq 0.05$) so that there was a significant difference of each treatment. In the post hoc analysis, there was a significant value of 0,000, so there was a significant difference between the controls with each concentration.

Keyword: *Annona muricata* L ., *disc diffusion*, ethyl acetate fraction, inhibition zone, *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
PRAKATA	vi
INTISARI	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan masalah	4
C. Tujuan penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Daun Sirsak.....	5
1. Tanaman Sirsak	5
2. Klasifikasi Daun Sirsak	6
3. Morfologi Tanaman.....	6
4. Kandungan Kimia	7
5. Manfaat Daun Sirsak	9
B. Ekstraksi dan Pelarut	10
1. Ekstraksi	10
a. Cara Dingin.....	11
1) Maserasi	11
2) Perkolasi.....	11

b. Cara Panas	11
1) Refluks	11
2) Soxhletasi.....	12
3) Digesti	12
4) Infus	12
5) Dekok.....	12
2. Fraksinasi	12
3. Pelarut	13
C. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
1. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2. Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	15
3. Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	15
4. Pengobatan <i>Staphylococcus aureus</i>	17
D. Metode Pengujian Antibakteri	17
1. Metode <i>disc diffusion</i>	17
2. Metode dilusi.....	19
E. Penelitian yang Pernah Dilakukan.....	20
F. Hipotesis.....	21
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	22
A. Desain Penelitian.....	22
B. Tempat dan Waktu	22
C. Populasi Dan Sampel	23
1. Populasi	23
2. Sampel	23
D. Besar Sampel.....	23
E. Variabel Penelitian	23
1. Variabel Bebas.....	23
2. Variabel Terikat.....	23
F. Kerangka Pikir.....	24
G. Jalur Penelitian	25
H. Alat dan Bahan	26

1. Alat	26
2. Bahan	26
I. Cara kerja	26
1. Pembuatan serbuk daun sirsak.....	26
2. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun sirsak.....	27
3. Pembuatan fraksi etil asetat daun sirsak secara fraksinasi	27
4. Skrining Fitokimia.....	28
5. Sterilisasi	28
6. Pembuatan stok bakteri.....	29
7. Konfirmasi bakteri Gram positif	29
8. Pembuatan stok variabel konsentrasi fraksi etil asetat	30
9. Pengujian aktivitas antibakteri	30
J. Analisa Data	31
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	32
A. Preparasi Sampel	33
B. Uji Fitokimia pada Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak	36
C. Uji Aktivitas Antibakteri	44
D. Analisis Data	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
A. Kesimpulan.....	51
B. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Sirsak	6
Gambar 2. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
Gambar 3. Kerangka Pikir	24
Gambar 4. Jalannya Penelitian.....	25
Gambar 5. Ekstrak Daun Sirsak	34
Gambar 6. Fraksi Etil Asetat.....	36
Gambar 7. Uji Alkaloid dengan Penambahan Reagen Dragendorff.....	37
Gambar 8. Reaksi Alkaloid dengan Reagen Dragendorff.....	38
Gambar 9. Uji Alkaloid dengan Penambahan Reagen Wagner	39
Gambar 10. Reaksi Alkaloid dengan Reagen Wagner.....	39
Gambar 11. Uji Flavonoid	40
Gambar 12. Reaksi Flavonoid.....	41
Gambar 13. Uji Saponin Sebelum dan Sesudah dikocok	42
Gambar 14. Uji Tanin dengan Penambahan Reagen FeCl ₃	43
Gambar 15. Reaksi Tanin dengan Reagen FeCl ₃	43

DAFTAR TABEL

Tabel I. Waktu Penelitian.....	22
Tabel II. Hasil Skrining Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak	37
Tabel III. Hasil Uji Daya Hambat Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Konfirmasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Lampiran 2. Dokumentasi Ekstraksi dan Fraksinasi.....	60
Lampiran 3. Perhitungan Randemen.....	63
Lampiran 4. Skrinning Fitokimia.....	64
Lampiran 5. Perhitungan Pembuatan Konsentrasi	65
Lampiran 6. Hasil Uji Zona Hambat.....	66
Lampiran 7. Hasil Analisis Statistik Diameter Zona Hambat.....	68

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jerawat sering di jumpai pada saat remaja, di Indonesia sekitar 95-100% laki-laki maupun 83-85% perempuan usia 16-17 tahun menderita jerawat. Jerawat merupakan penyakit pada permukaan kulit wajah, leher, dada, dan punggung yang muncul pada saat kelenjar minyak pada kulit terlalu aktif sehingga pori-pori kulit akan tersumbat oleh timbunan lemak yang berlebihan. Jika timbunan itu bercampur dengan keringat, debu dan kotoran lain, maka akan menyebabkan timbunan lemak dengan bintik hitam di atasnya yang di sebut komedo. Jika pada komedo terdapat infeksi bakteri, maka terjadilah peradangan yang di sebut dengan jerawat yang ukurannya bervariasi mulai dari ukuran kecil sampai ukuran besar, kadang-kadang bernanah serta menimbulkan rasa nyeri (Djajadisastra, 2009). Jerawat muncul apabila jumlah flora normal pada kulit berlebih dimana jumlah normal bakteri pada kulit berkisar 10^3 - 10^4 mikroorganisme/cm².

Bakteri yang sering ditemukan pada jerawat adalah bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* biasanya terdapat pada saluran pernafasan atas, kulit, saluran kencing, mulut dan hidung, jaringan kulit bagian dalam dari bisul bernanah, infeksi luka, radang paru-paru dan selaput lendir lainnya (Jawetz, 1974).

Pada pengobatan jerawat biasanya digunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik dalam waktu yang panjang dapat menimbulkan resistensi. Pencegahan resistensi dapat dilakukan dengan memanfaatkan kembali bahan-

bahan alam dengan harapan dapat meminimalkan efek samping yang terjadi pada penggunaan antibiotik (Saraswati, 2015).

Di Indonesia terdapat berbagai jenis tanaman obat, lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat tersebar di seluruh negara tersebut. Sekitar 1000 jenis tanaman di manfaatkan untuk pengobatan tradisional. Penggunaan tanaman sebagai bahan obat tradisional memerlukan penelitian untuk menentukan khasiatnya.

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk diteliti adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L.). Hampir semua masyarakat mengetahui buah sirsak, selain rasanya yang manis dan segar, ternyata buah ini juga memiliki segudang manfaat terutama untuk kesehatan. Mulai akar, batang, daun hingga biji ternyata berkhasiat. Penggunaan sirsak sebagai obat-obatan sebenarnya bukan merupakan suatu hal yang baru di Indonesia. Secara turun temurun, sirsak telah digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia untuk mengobati beberapa penyakit. Seperti di daerah Jawa barat buah sirsak muda digunakan untuk obat penurun tekanan darah tinggi dan di Aceh buah sirsak digunakan sebagai obat hepatitis dan daunnya sebagai obat batuk (Mardiana & Ratnasari, 2011).

Tanaman sirsak umumnya digunakan sebagai antiparasit, antispasmodik, zat antikanker, obat penenang, hipotensi, insektisida, batuk, demam, dan penyakit kulit. Kulit batang dan akar tanaman sirsak biasa digunakan sebagai obat untuk diare, disentri dan cacing usus. Pulp buah tanaman ini juga digunakan dalam mengobati demam. Buah mentahnya digunakan dalam pengobatan radang usus dan untuk kudis. Sementara bagian tanaman sirsak seperti akar, kulit batang dan

daun dapat digunakan sebagai obat cacing. Bagian bunga dan polong buah dapat digunakan sebagai obat untuk penyakit selesema (Adewole, 2006).

Daun sirsak mampu mengatasi jerawat. Daun sirsak yang mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid ini berpotensi sebagai bahan untuk mencegah penyakit infeksi bakteri (Astawan, 2008). Selain flavonoid, kimia sirsak yang juga dimanfaatkan sebagai obat adalah tanin. Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang sering ditemukan pada tanaman. Umumnya tanin digunakan untuk pengobatan penyakit kulit dan sebagai antibakteri, untuk pengobatan diare, hemostatik (menghentikan pendarahan) dan wasir (Subroto & Saputro, 2006). Secara medis tanin digunakan sebagai antibakteri menurut Naim (2004) berhubungan dalam kemampuan tanin dalam menginaktivasi sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin yang mempunyai target polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan dinding sel karena tanin merupakan senyawa fenol.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Ika Rusmiyati *et al*(2012) menyatakan bahwa ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan konsentrasi efektif 25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dengan luas daerah hambat bakteri sebesar 21 mm (Ika Rusmiyati *et al*, 2012).

Berdasarkan latar belakang diatas maka di lakukan penelitian yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.”

B. Rumusan Masalah

1. Apakah fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*?
2. Pada konsentrasi berapakah fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang paling baik menghambat *Staphylococcus aureus*?

C. Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.
2. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi paling baik fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan melakukan uji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Obat Tradisional Stikes Nasional Surakarta pada bulan September 2017 – Januari 2018.

Tabel I. Waktu penelitian

Tahapan penelitian	Uraian kegiatan	Bulan ke-				
		September 2017	Oktober 2017	November 2017	Desember 2017	Januari 2018
Persiapan	Penentuan judul	V				
	Studi pustaka	V	V	V		
	Persiapan bahan dan alat		V	V		
Pelaksanaan	Pengumpulan data			V	V	
	Analisis data			V	V	
Penyelesaian	Penyusunan laporan					V

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi sampel yang digunakan adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diambil dari dari Desa Sokoboyo, Kecamatan Slogohimo, Kabupaten Wonogiri.

2. Sampel

Sampel yang digunakan adalah fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata*L). Sampel bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

D. Besar Sampel

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) urutan ke-4 dari ujung dan diserbuk sebanyak 500 gram.

E. Variabel Penelitian

Variabel diklasifikasikan menjadi 2 yaitu:

1. Variabel Bebas

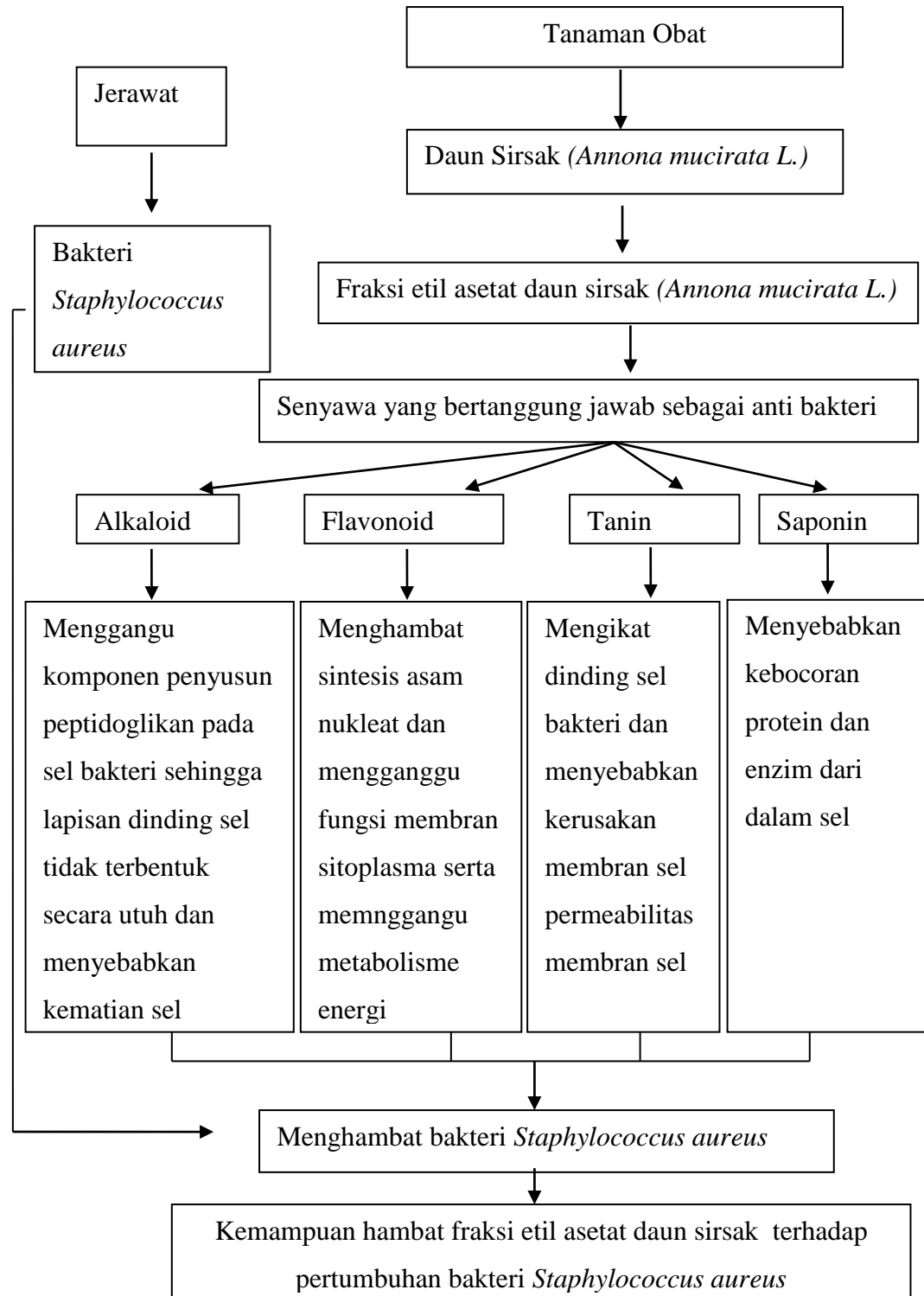
Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi fraksi etil asetat daun sirsak dalam tingkat 25%, 50%, 75%, dan 100%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

F. Kerangka Pikir

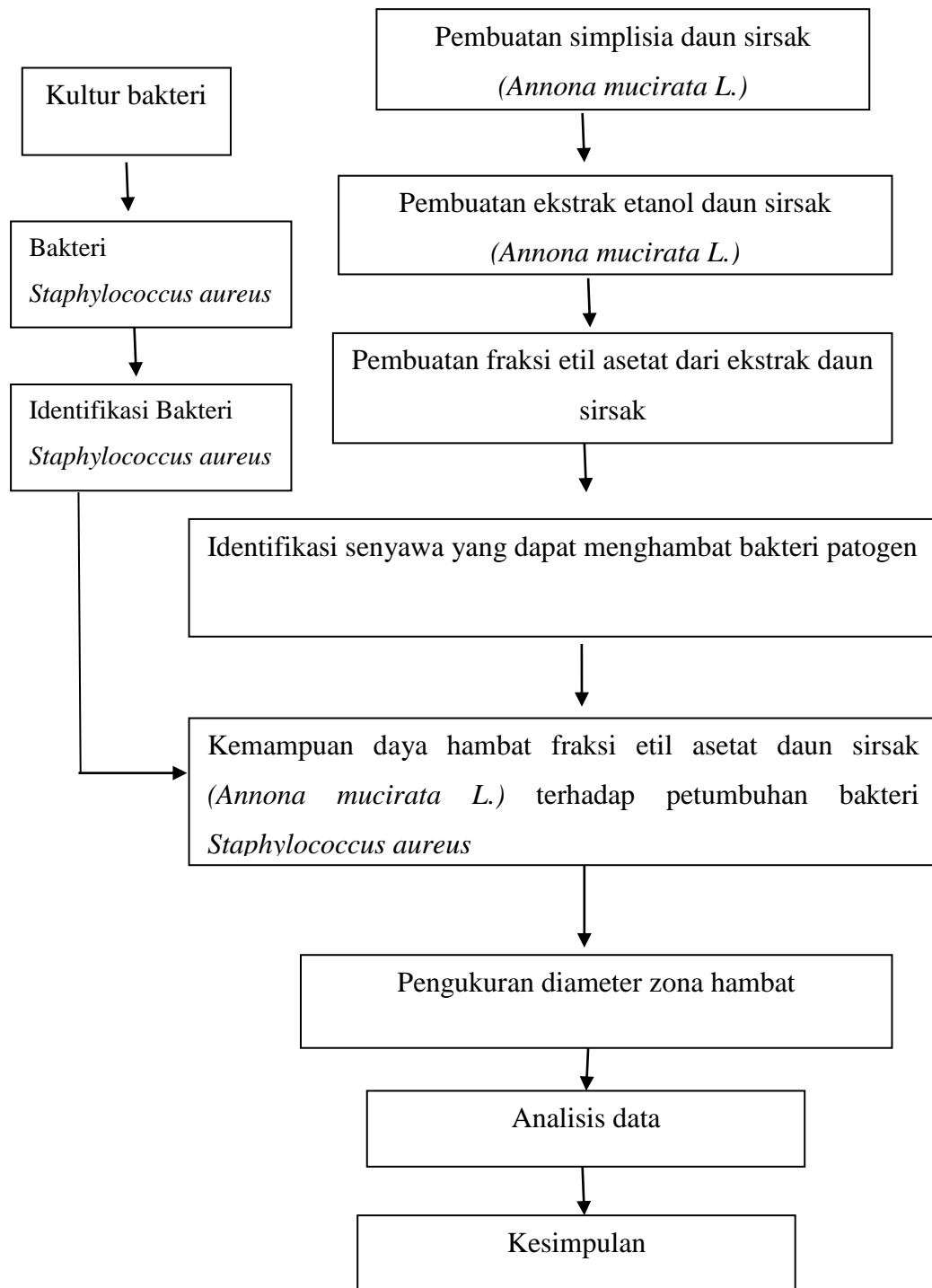
Kerangka pikir dari penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 3. Bagan Kerangka Pikir

G. Jalur Penelitian

Jalur dari penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 4. Bagan Jalur Penelitian

H. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penggiling/blender, toples kaca besar, jangka sorong, pembakar spirtus, timbangan analitik, kapas lidi steril, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, corong pisah, ayakan, seperangkat alat gelas laboratorium, kain flanel, rak tabung, autoklaf, timbangan analitik, kertas saring, *rotary evaporator*, inkubator.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Pelarut etil asetat, etanol 96%, *blank disk*, *disc gentamicin*, *Nutrien Agar*, larutan standart *NeflometerMcFarland* 0,5, Nacl 0,9%, DMSO 10%.

I. Cara Kerja

1. Pembuatan serbuk daun sirsak

Pembuatan serbuk daun sirsak dilakukan dengan mencuci daun sirsak terlebih dahulu sampai bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu. Daun sirsak yang sudah bersih kemudian di jemur menggunakan sinar matahari langsung dengan ditutup dengan kain hitam (Sari,2006). Daun sirsak yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk/blender kemudian diayak dengan ayakan, sehingga diperoleh serbuk daun sirsak yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen.

Penyerbukan ini bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif.

2. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun sirsak

Serbuk daun sirsak ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam bejana lalu ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1 : 7,5. Campuran tersebut didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog. Filtrat kemudian dipisahkan dengan ampas/disaring dengan menggunakan kain flanel. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50° C sehingga didapat ekstrak kental daun sirsak (Depkes, 1986).

3. Pembuatan fraksi etil asetat daun sirsak secara fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun sirsak kemudian dilarutkan dengan pelarut air, difraksi 3 kali dengan pelarut n-heksan masing-masing 75 ml. Proses fraksinasi dilakukan dengan corong pisah, fraksi n-heksan terletak diatas dan fase air terletak di bawah. Fraksi air dari proses pemisahan tersebut diambil kembali dan kemudian di fraksinasi lagi sebanyak 3 kali menggunakan etil asetat masing-masing 75ml. Fraksi etil asetat terletak di atas sedangkan fase air terletak di bagian bawah. Fraksi etil asetat yang didapat dipekatkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50° C (Mahanani, 2012).

4. Skrinning Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Ekstrak sampel sebanyak 1 – 2 mL ditambahkan sedikit serbuk Mg, HCl 2 N dan etanol sebanyak 4 – 5 tetes kemudian dikocok. Perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga menunjukkan positif flavonoid (Kurniasih *et al*, 2015).

b. Uji Alkaloid

Filtrat dalam tiga tabung reaksi, masing-masing tabung ditambahkan pereaksi Wagner dan pereaksi Dragendorff sebanyak 4 – 5 tetes. Perubahan warna dan terbentuknya endapan berturut-turut berwarna kuning-merah lembayung dan jingga menunjukkan positif alkaloid (Kurniasih *et al*, 2015).

c. Uji Tanin

Filtrat fraksi etil asetat daun sirsak ditambahkan FeCl₃ beberapa tetes. Perubahan warna dan terbentuknya endapan berwarna hijau kehitaman.

d. Uji Saponin

1 ml fraksi etil aetat di tambahkan air kemudian di kocok kuat selama 10 menit. Hasil positif bila terdapat buih stabil (Depkes RI,1989)

5. Sterilisasi

Semua peralatan yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan dibungkus kertas dan disterilkan dengan oven pada suhu 200° C selama 1–2 jam dan bahan yang akan digunakan untuk uji mikrobiologi disterilkan

dengan autoclave pada suhu 121° C selama 15–20 menit. Sedangkan untuk jarum ohse di sterilkan langsung pada nyala api (Sari, 2006).

6. Pembuatan stok bakteri

Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* dari media NA miring diambil sebanyak 1 ohse, kemudian diinokulasikan pada media KPD (Kaldu Pepton Darah) secara aseptis. Kemudian tabung ditutup dengan kapas dan dihomogenkan setelah itu diinkubasi selama 24 jam selama 37°C.

7. Konfirmasi bakteri Gram positif

a. Media BAP

Dari media Penyubur KPD bakteri, biakan bakteri gram positif ditanam pada media BAP dengan cara goresan. Kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Ditandai dengan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* berkoloni kecil, kuning keemasan dan dapat menghemolisa darah sehingga koloni tampak transparan.

b. Media MSA (*Manitol Salt Agar*)

Dari media penyubur KPD diinokulasikan dengan cara tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig-zag pada kemiringan media. Hasil positif ditandai koloni dan media berwarna kuning yang menunjukkan bahwa bakteri dapat memecah manitol.

c. Media NA miring

Dari media penyubur KPD diinokulasikan dengan cara tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig-zag

pada kemiringan media. Hasil positif ditandai pigmen berwarna kuning keemasan.

d. Uji Katalase

Obyek glass diambil kemudian difiksasi untuk menghilangkan lemak. Sterilkan ohse, kemudian diambil 2-3 ohse pencair NaCl 0,9 lalu diletakkan diatas obyek glass secara aseptis. Disterilkan ohse lagi kemudian ambil dari media padat BAP dengan cara steril. Setelah itu dihomogenkan. Setelah itu ditetaskan dengan 1 tetes H_2O_2 3% kemudian didapatkan hasil positif yang ditandai dengan terjadi gelembung udara.

e. Uji Koagulase

Obyek glass diambil kemudian difiksasi untuk menghilangkan lemak. Sterilkan ohse, kemudian ambil beberapa ohse NaCl 0,9 lalu diletakkan diatas obyek glass. Kemudian ambil bakteri dari media NA miring lalu dihomogenkan. Kemudian ditetesi plasma sitrat steril didapatkan hasil positif yang ditandai dengan terjadi gumpalan.

8. Pembuatan stok variabel konsentrasi fraksi etil asetat

Stok konsentrasi yang akan divariasikan adalah mulai dari 25%, 50%, 75%, dan 100% fraksi etil asetat dengan menggunakan pelarut DMSO 10%, serta kontrol negatif dan kontrol positif.

9. Pengujian aktivitas antibakteri

Inokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus* kedalam NaCl 0,9% steril, kemudian suspensi bakteri di bandingkan dengan standar *Neflometer McFarland* 0,5 hingga didapatkan kekeruhan yang sama. Suspensi bakteri

Staphylococcus aureus dioleskan menggunakan kapas lidi steril pada permukaan media pertumbuhan *Nutrient agar* kemudian diinkubasi pada suhu 37° selama 15 menit. Kemudian merendam *blankdisk* pada perlakuan konsentrasi fraksi hingga terserap merata \pm 5 menit lalu tiriskan, untuk kontrol negatif *blankdisk* direndam dalam DMSO lalu tiriskan. Secara aseptis, letakkan *disk* yang sudah direndam dengan fraksi sampel/*disk* yang berisi DMSO/*disk* antibiotik menggunakan pinset steril pada masing-masing petri secara terpisah lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian ukur daerah pada agar menggunakan penggaris atau jangka sorong. Pengukuran dilakukan dari ujung zona bening terluar keujung lainnya ke ujung lainnya melalui tengah-tengah *blankdish*, lalu dihitung rata-rata zona hambatnya.

J. AnalisaData

Pengumpulan data dilakukan dengan menganalisa daya hambat uji antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona mucirata* L.) pada bakteri *Staphylococcus aureus*, pengumpulan data dilakukan dengan membuat fraksi etil asetat daun sirsak dan dibuat pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Masing masing konsentrasi diuji daya hambatnya dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Data dan hasil penelitian dikumpulkan dan dilakukan analisis data statistika menggunakan bantuan software SPSS.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat pada konsentrasi 100% (21,28 mm), 75% (13,23 mm), 50% (8,70 mm), 25% (7,28 mm), dengan nilai signifikan 0,000.
2. Fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) paling baik dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100% yaitu 21,38 mm.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri fraksi air dan fraksi n-heksan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak pada bakteri penyebab ISPA, Gram negatif, jamur maupun bakteri Gram positif lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adewole, S.O, and Ojewole, J.AO, 2006, Protective Effects *Annona murica* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Serum Lipid Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research*. 9(4); 173-180.
- Arimuko A, 2010, Pola Resistensi Kuman *Staphylococcus* dan *Streptococcus* pada Pioderma Primer di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya, *Skripsi*, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Astawan, M., 2008, *Sehat Dengan Buah*, Dian Rakyat, Bogor.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse,S.A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, Salemba Medika, Jakarta.
- Chuisine, T., dan Andrew J.L., 2005, Antimicrobial Activity of Flavonoids, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
- Departemen Kesehatan RI, 1979, *Farmakope Indonesia, Edisi III*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1986, *Sediaan Galenik, Jilid III*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1989, *Materia Medika Indonesia, Jilid V*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2005, *Materia Medika Indonesia, Jilid II*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Djajasastra, Josita, 2009, Formulasi Gel Topikal Dari Ekstrak Neri i Folium Dalam sediaan Anti Jerawat, *Jurnal Farmasi Indonesia* 4(4):210-216.
- Ersinta, dan Kardewi, 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Daun Sirsak (*Annona mucirata* Linn) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Jurnal Farmasi* 11(4), Program Studi Ilmu Keperawatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bina Husada.
- Farida, 2006, Pengaruh Persiapan Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam Media Agar terhadap Diameter Zona Hambatan Antibiotika Gentamisin Metode Difusi Cakram Kirby Bauer, *Artikel Pendidikan (73)*, Poltekes Kemenkes Mataram, Mataram.
- Febriani, N.W., 2014, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis Jacq*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* Serta Profil KLT nya, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Kosasih, P. & Iwang, S., Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Harborne, J.B., 2006, *Metode Fitokimia Penuntunan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi III*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., Institut Teknologi Bandung, Bandung.

- Jawetz, E., Melnick, J.L, Adelberg, E.A., 1974, *Review of Medical Microbiology 11 th edition*, Penerbit LANGE Medical Publications, California.
- Jawetz, E., Melnick, J.L, Adelberg, E.A., 1996, *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*, Di Terjemahkan oleh Edi Nugroho dan RF Maulany, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Juliantina, F., Dewa, A.C.M., Bunga, N., Titis, N., Endrawati, T.B., 2008, Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakteria terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif, *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Kurniasih, N., Kusmiyati, M., Nurhasanah, Sari, R.P., Wafdan, R., 2015, Potensi Daun Sirsak, Daun Binahong, dan daun Benlu Mangga Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker, *Jurnal Farmasi* 9(1), Fakultas Sains dan Teknologi serta Jurusan farmasi Politeknik Kesehatan, Bandung.
- Maharani, Purwa S., Uji Aktivitas Antidiabetes Dengan Metode Penghambatan Enzim Alfa-Glukosidase dan Penapisan Fitokimia dari Fraksi Teraktif Kulit Batang Buni (*Antidesma bunius* L.), *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok.
- Mardiana, L. dan Ratnasari, J, 2011, *Ramuan dan Khasiat Sirsak*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Naim, R, 2004, *Senyawa Antimikroba dari Tumbuhan*, FKH dan Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor.
- Natsir, Sartini, dan Syahrudin, K., 2005, *Analisis Mikrobiologi Farmasi*, Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.

- Ningsih,D.R., Zufahair, Kartika D., 2016, Identifikasi Senyawa Metabolik Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri Molekul
- Pratiwi,S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 188-191, Erlangga, Jakarta.
- Reynolds, J. E. F. 1996. Martindale, *The Extra Pharmacopeia 31th Edition. The Royal Pharmaceutical Society Press*, London. p : 114 – 117.
- Robinson,T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Rusmiyati, I., Dirayah, R.H., Gemini, A., 2012, Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Muda Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*, *Jurnal Farmasi*, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Saraswati, F. N., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa balbisiana*) Terhadap Bakteri penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*), *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Sari, Y.D., Djannah, S.N., Nurani, L.H., 2006, Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona mucirata* L.) Secara In Vitro terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 2593 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta Profil kromatografi Lapis Tipisnya, *Jurnal Farmasi* 4(3).
- Subroto, A. Saputro, H., 2006, *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut*, Jakarta.

Suranto, A., 2011, *Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit*, Pustaka Bunda, Jakarta.

Syahrurahman, A., 1994, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*, Binarupan Aksara, Jakarta.

Tuna, M.R.,Kepel, B.J.,Leman, M.A., 2015, Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona mucirata* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, *Jurnal Farmasi* 4(4).

Widiastuti, A.E.S., Sri, R.D.A., Ashadi, Bakti, M., Cici, P.R., 2014, Skrining Fitokimia dan Identifikasi komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian Varietas Petruk, *Seminar Nasional*, FMIPA FKIP UNS, Surakarta.