

AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus haemolyticus*

Oleh
Marcelino Edo Ba Beang
181148201041

SKRIPSI

Untuk memenuhi salah satu syarat ujian
guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi



PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU
SAMARINDA
2025

LEMBAR PENGESAHAN

AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI SIRSAK (*Annona muricata L.*)

TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI

Staphylococcus haemolyticus

Dipersiapkan dan disusun oleh:

MARCELINO EDO BA BEANG

181148201041

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 05 Mei 2025

Pembimbing Utama



apt. Muh. Taufiqurrahman, M.farm.

NIDN: 0322089301

Mengetahui,

Ketua Program Studi S-1 Farmasi



apt. Raymon Simanullang, M.Pharm.

NIK: 0924.A4.18

Pembimbing Pendamping



Risny Oklyan, M.Farm.

NIK: -

Tim Penguji:

Ketua: apt. Liniati Geografi, M., Sc.



Anggota

1. apt. Raymon Simanullang, M.Pharm.



2. apt. Muh. Taufiqurrahman, M.farm



ii

ABSTRAK

Tanaman sirsak adalah salah satu tumbuhan yang tumbuh di daerah tropis dan sudah lama dimanfaatkan secara luas sebagai obat tradisional pada berbagai penyakit seperti cystitis, diabetes, nyeri kepala, flu, asma, dan insomnia. Pemanfaatan biji sirsak masih terbatas karena biasanya biji sirsak langsung dibuang. Penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh iyekowa dkk (2020) menunjukkan bahwa biji sirsak memiliki adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat 28 mm dan pada bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata diameter zona hambat 25 mm. Biji sirsak memiliki kandungan fitokimia yang hampir sama dengan bagian daunnya, didapatkan bahwa ekstrak etanol 96% biji sirsak positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, dan polifenol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktifitas ekstrak etanol biji buah sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus* secara in vitro menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 10%, 20 dan 30%. Metode difusi cakram merupakan pengukuran daerah zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antimikroba. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus haemolyticus* pada konsentrasi 10%, 20% dan 30%. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*) dengan konsentrasi 10% (2.798 mm), 20% (4.392 mm) dan 30% (5.741 mm), rata-rata kontrol positif sebesar 7,465 dengan standar deviasi 2,49, termasuk kategori sedang.

Kata Kunci : Biji sirsaks, *Staphylococcus haemolyticus*, *Annona muricata L*, metodedifusi

ABSTRACT

Soursop plant is one of the plants that grows in tropical areas and has long been widely used as a traditional medicine for various diseases such as cystitis, diabetes, headaches, flu, asthma, and insomnia. The use of soursop seeds is still limited because soursop seeds are usually thrown away. Previous research conducted by Iyekowa et al. (2020) showed that soursop seeds have antibacterial activity against staphylococcus aureus bacteria with an average inhibition zone diameter of 28 mm and against Escherichia coli bacteria with an average inhibition zone diameter of 25 mm. Soursop seeds have almost the same phytochemical content as the leaves, it was found that 96% ethanol extract of soursop seeds positively contained alkaloids, flavonoids, saponins, steroids, terpenoids, and polyphenols. This study aims to determine the activity of ethanol extract of soursop seeds on the growth of staphylococcus haemolyticus bacteria in vitro using the disc diffusion method with concentrations of 10%, 20 and 30%. The disc diffusion method is a measurement of the clear zone area formed around the disc paper used to determine antimicrobial activity. The results showed that the ethanol extract of soursop seeds (Annona muricata L.) has antibacterial activity against the growth of Staphylococcus haemolyticus bacteria at concentrations of 10%, 20% and 30%. The average diameter of the inhibition zone of ethanol extract of soursop seeds (Annona muricata L.) with a concentration of 10% (2,798 mm), 20% (4,392 mm) and 30% (5,741 mm), the average positive control was 7.465 with a standard deviation of 2.49, including the medium category.

Keywords : Soursop seeds, Staphylococcus haemolyticus, Annona muricata L, diffusion method

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya melalui pancaran sinar suci-Nya berupa ilmu pengetahuan penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI BUAH SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus haemolyticus*” dengan tepat waktu. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung saya dalam menyelesaikan skripsi ini, terutama kepada :

1. Tuhan Yang Maha Kuasa, atas berkat-Nya berupa kesehatan dan pengetahuan sehingga penulis dapat menyelesaikan tahap demi tahap proses pembuatan skripsi ini.
2. Keluarga besar Fransiskus Huvat Kueng dan Wilhelmina Kelawing Yo yang telah banyak memberikan semangat serta dukungan selama proses perkuliahan penulis.
3. Ibu Ns. Vinsensia Tetty, M.Kep selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
4. Bapak apt. Raymon Simanullang, M.Pharm selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi dan pembimbing akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis.
5. Bapak apt. Muh. Taufiqurrahman, M.farm., selaku dosen Pembimbing Skripsi yang telah banyak memberi masukan dan saran untuk perbaikan skripsi ini.
6. Laporan laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda Kak Geti yang telah banyak membantu penulis saat melakukan penelitian.
7. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda yang telah memberi ilmu pengetahuan, motivasi dan bimbingan selama perkuliahan.
8. Teman-teman yang telah memberikan kesan suka duka dalam kebersamaan

yang tak akan pernah terlupakan bagi penulis, selalu menyemangati dan mendukung selama perkuliahan hingga selesainya skripsi ini dengan baik.

9. Dan semua pihak yang telah membantu dalam proses dari awal perkuliahan hingga akhir penelitian yang tidak dapat disebut satu-persatu.

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan baik dari segi materi maupun penyusunannya. Dalam penyusunan proposal skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca untuk perbaikan dimasa yang akan datang. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan dan dapat memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak pembaca maupun pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, Agustus 2025

Marcelino Edo Ba Beang

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	2
1.2 Identifikasi masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.3.1 Tujuan Umum.....	2
1.3.2 Tujuan Khusus.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Bagi peneliti.....	3
1.4.2 Bagi Masyarakat.....	3
1.4.3 Bagi Industri.....	3
1.5 Hipotesis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Buah Sirsak.....	4
2.2 Morfologi, Fisiologi dan Aktivitas Bakteri <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	7
2.3 Infeksi Klinis Terkait dengan <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	8
2.4 Aktivitas Antibakteri.....	9
2.5 Metode Kultur Bakteri.....	12
2.6 Metode Uji Aktivitas Antibakteri	13
2.7 Metode Ekstraksi	15
2.8 Media	15

2.9 Bahan pembanding	17
2.10 Sterilisasi	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.3 Metode Penelitian	20
3.4 Tahap Penelitian	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil	29
4.2 Pembahasan	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 : Buah sirsak dan biji sirsak.....	4
2.2 : <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	8
4.1 : Grafik diameter zona hambat pada bakteri <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 : Hasil Ekstraksi Biji Sirsak.....	29
4.2 : Hasil skrining fitokimia biji sirsak	29
4.3 : Diameter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji sirsak (<i>annona muricata l.</i>) terhadap pertumbuhan bakteri <i>staphylococcus haemolyticus</i>	31
4.4 : Uji <i>Shapiro Wilk</i> data <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	33
4.5 : Uji <i>Kruskall wallis H</i> data <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	34
4.6 : Uji <i>Mann-whitney Staphylococcus haemolyticus</i>	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 : Surat Ijin Penelitian	44
2 : Surat Balasan Ijin Penelitian	45
3 : Surat Determinasi dan Sertifikat Bakteri.....	46
4 : Hasil Perhitungan Rendeman	48
5 : Perhitungan Diameter Zona Hambat Bakteri <i>Staphylococcus</i> <i>Haemolyticus</i>	49
6 : Skrining Fitokimia.....	50
7 : Perlakuan	51
8 : Pengamatan	52
9 : Hasil Uji Statistik Bakteri <i>Staphylococcus Haemolyticus</i>	53
10 : Hasil Perhitungan Konsentrasi	56

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Staphylococcus haemolyticus dan *Staphylococcus aureus* memiliki > 99,9% identitas dalam urutan betalaktamase dan qac agen, menunjukkan kemungkinan pertukaran antar ruang dari elemen genetik yang bertanggung jawab untuk resistensi terhadap antibiotik (Anthonisen *et al.*, 2002). Antibiotik merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan pengobatan yang dilakukan menjadi kurang efektif sehingga menyebabkan resistensi (Kemenkes, 2016).

Tanaman sirsak adalah salah satu tumbuhan yang tumbuh di daerah tropis. Tanaman sirsak sudah lama dimanfaatkan secara luas sebagai obat tradisional pada berbagai penyakit seperti sistitis, diabetes, nyeri kepala, flu, asma, dan insomnia (Widyananda dkk., 2021). Tanaman sirsak mengandung senyawa metabolit sekunder seperti acetogenin, alkaloid, senyawa fenol, serta senyawa lainnya seperti vitamin, karoten, amida dan siklopeptida (Gavamukulya dkk., 2017). Selain buah, bagian biji sirsak memiliki kandungan fitokimia yang hampir sama dengan bagian daunnya. Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan oleh Arifianti dkk (2014) didapatkan bahwa ekstrak etanol 96% biji sirsak positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, dan polifenol. Penelitian lain yang dilakukan oleh Olabinjo, (2020) didapatkan bahwa kandungan fitokimia biji sirsak yang dikeringkan pada suhu 40°C didapatkan hasil 4,82 mg/g tanin, 16,73 mg/100g alkaloid, 120,1 mgGAE/l fenol, dan 5,69 mg/100g flavonoid.

Penelitian terkait uji aktivitas antibakteri pada daun sirsak sudah pernah dilaporkan sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Zai dkk (2019) terkait uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 9,7 mm pada konsentrasi 20%, 13,7 mm pada konsentrasi 60%, 15,7 mm pada konsentrasi 60%, dan 16,3 mm pada konsentrasi 80%. Penelitian terkait biji

sirsak sebagai antibakteri dilakukan oleh Iyekowa dkk (2020) menyatakan bahwa pada ekstrak etanol biji sirsak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*(28 mm) dan *Escherichia coli* (25 mm) pada konsentrasi yang sama yaitu 100 mg/ml.

Berdasarkan data di atas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas ekstrak etanol biji sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus* dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30%. Metode yang digunakan adalah metode difusi cakram untuk mengetahui diameter zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak etanol biji sirsak. Pemilihan konsentrasi ini mengacu pada penelitian soleh dkk (2020) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol biji sirsak pada konsentrasi 20% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

1.2 Identifikasi masalah

Berdasarkan latar belakan masalah diatas, maka identifikasi masalah dari penelitian ini sebagai berikut :

- 1.2.1 Apakah ekstrak etanol biji buah sirsak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus haemolyticus* ?
- 1.2.2 Berapakah nilai diameter daya hambat (DDH) ekstrak etanol biji buah sirsak terhadap bakteri *Staphylococcus haemolyticus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol biji buah sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus haemolyticus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui nilai diameter daya hambat (DDH) ekstrak etanol biji buah sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus haemolyticus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi peneliti

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah wawasan dan pengetahuan peneliti dalam penggunaan bahan alam khususnya biji buah sirsak (*annona muricata L*) sebagai alternatif pengobatan dalam menghambat serta mencegah salah satu bakteri penyebab infeksi *Staphyloccocus haemolyticus*.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi secara ilmiah tentang potensi kearifan lokal salah satu bahan alam di indonesia yaitu biji buah sirsak sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus*.

1.4.3 Bagi Industri

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi perkembangan ilmu farmasi serta menambah kajian farmasi di bidang bahan alam yang dapat dikembangkan menjadi sediaan farmasi.

1.5 Hipotesis

- 1.5.1 H₀ : Ekstrak etanol biji buah sirsak (*Amuricata L.*) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphyloccocus haemolyticus*
- 1.5.2 H₁ : Ekstrak etanol biji buah sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus haemolyticus*

BAB II KONSEP TEORI

2.1 Buah Sirsak

2.1.1 Klasifikasi tanaman

Klasifikasi dari tanaman buah sirsak (*annona muricata L.*)
(Gavamukulya dkk.,2017) :

1. Kingdom : Plantae
2. Superdivisi : Spermatopyta
3. Divisi : Magnoliophyta
4. Kelas : Magnoliopsida
5. Subkelas : Magnoliidae
6. Ordo : Magnoliales
7. Familia : Annonaceae
8. Genus : Annona
9. Species : Annona muricata L



Gambar 2.1 : Buah sirsak dan biji sirsak
Sumber : (Agrotek, 2019)

2.1.2 Morfologi Tanaman Sirsak

Sirsak (*Annona muricata L.*) adalah tanaman dari daratan Amerika Selatan, di daerah Amazon, Brazil. Berbagai negara di dunia, mengenal sirsak dengan nama soursop, guanabana, carosel, thurian-thet, dan graviola. Di Indonesia nama sirsak berasal dari bahasa Belanda yaitu zuursak. Buah sirsak tidak mengenal musim dan selalu berbuah sepanjang tahun. Karena rasa buahnya yang lezat, sirsak banyak dikonsumsi sebagai jus maupun diolah menjadi makanan seperti dodol sirsak atau bahan tambahan makanan lainnya

(Adi, 2011).

Pohon sirsak juga telah mrnyebar ke berbagai negara, tanaman ini ini dibawa oleh orang spanyol ke filiphina dan terbukti dapat tumbuh di sebagian besar negara tropis, diantaranya Benin, Cambodia, China, Cota d'ivoire, Eritrea, Ethiopia, Ghana, India, Laos, Liberia, Mauritania, Nigeria, Tanzania, Thailand, Togo, Uganda, Vietnam, Reunion, Senegal, Sierra Leone, dan termasuk Indonesia (Zuhud, 2011).

Buah sirsak dapat dipanen setelah berumur lebih dari tiga tahun. Musim berbunga pohon sirsak paling banyak terjadi selama bulan Oktober sampai November dan musim buahnya jatuh pada bulan Januari serta Februari. Dari satu pohon sirsak dapat diperoleh sekitar 2-30 buah sirsak dengan bobot kira- kira 200- 1200 gram. Namun produksi sirsak akan mengalami penurunan setelah usia pohon mencapai 8-10 tahun sehingga dibutuhkan peremajaan (Herliana dkk., 2011). Pohon sirsak memiliki model Troll, ketinggian mencapai 8-10 meter, dan diameter batang 10-30 cm (Radi, 1998). Tanaman sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Buah sirsak termasuk buah semu, daging buah lunak atau lembek, berwarna putih, berserat dan berbiji pipih berwarna hitam. Rasa daging buah sirsak yaitu manis, manis asam, segar serta beraroma khas. Apabila sudah matang, warna kulit buahnya agak terang, hijau kekuningan dan mengkilap. Bagian ujungnya agak membulat (Herliana dkk., 2011). Biji buah sirsak berwarna coklat agak kehitaman dan keras, berujung tumpul, permukaan halus mengkilat dengan ukuran panjang kira-kira 16,8 mm dan lebar 9,6 mm. jumlah biji dalam satu buah bervariasi, berkisar antara 20-70 butir biji normal, sedangkan yang tidak normal berwarna putih kecoklatan dan tidak berisi.

2.1.3 Habitat tanaman sirsak

Tanaman sirsak membutuhkan kondisi lingkungan yang tepat untuk tumbuh dengan subur. Pada umumnya, sirsak hanya bisa

tumbuh pada wilayah tropis dan subtropis pada ketinggian 0 hingga 1000 m di atas permukaan laut. Tetapi sirsak juga masih bisa tumbuh pada ketinggian di atas 1000 m, namun buah yang dihasilkan pada ketinggian tersebut sangat kecil (Wicaksono, 2012). Saat ini, terdapat 2 jenis rasa sirsak yang diketahui di Indonesia, antara lain :

1. Sirsak dengan rasanya yang manis dan asam serta memiliki banyak biji. Spesies ini tersebar luas di seluruh Indonesia
2. Sirsak dengan rasanya yang manis, lengket di bagian ujung lidah dan memiliki beberapa biji saja. Spesies ini dikenal sebagai ratu sirsak (Wicaksono, 2012).

2.1.4 Kandungan Senyawa

Kandungan kimia tanaman sirsak antara lain tanin, saponin, alkaloid, flavonoid, kalsium, fosfor, karbohidrat, vitamin (A, B serta C), fitosterol dan kalsium oksalat. Konstituen kimia dari spesies Annonaceae terdiri dari dua kelompok, yaitu non alkaloid dan alkaloid. Golongan non alkaloid yang dikenal adalah sukrosa, glukosa, fruktosa dan gliserida, yang mempunyai manfaat dapat membunuh serangga. Golongan alkaloid yang terdapat pada tanaman ini mengandung beberapa senyawa dari golongan benzil-tetrahidroisoquinolin, antara lain liriodin yang mempunyai sifat sebagai antitumor, antibakteri dan antijamur (Widiana, et al., 2010).

Flavonoid merupakan golongan senyawa kimia yang terdapat pada daun sirsak yang mempunyai peran penting dalam bidang pengobatan. Flavonoid termasuk kedalam metabolit sekunder dan keberadaannya di daun pada tanaman dipengaruhi oleh proses fotosintesis (Sari, 2018). Mekanisme kerja golongan senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein terlarut dan ekstraseluler, sehingga menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri serta diikuti dengan pelepasnya senyawa intraseluler.

Kandungan kimia dari tanaman sirsak yang juga digunakan sebagai obat adalah tanin. Tanin merupakan senyawa metabolit

sekunder yang banyak terdapat pada tumbuhan (Widiana, et al., 2010). Mekanisme kerja tanin sebagai agen bakteri yaitu dengan cara menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase serta mencegah pembentukan sel dari bakteri (Nuria, et al., 2009). Saponin mempunyai sifat antibakteri dengan mekanisme kerja yang dapat menyebabkan protein dan enzim mengalami kebocoran. Hal tersebut terjadi karena zat aktif permukaannya sama dengan deterjen, sehingga zat tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan dan mengganggu permeabilitas pada dinding sel bakteri (Ningsih, et al., 2016).

2.1.5 Manfaat

Sirsak (*Annona muricata L.*) mempunyai isi buah yang sangat tebal dan kaya akan vitamin C alami. Pada buah sirsak juga terkandung zat antioksidan yang cukup tinggi (Prasetyorini, et al., 2014). Daun dari tanaman sirsak secara tradisional dapat digunakan untuk pencegahan dan pengobatan berbagai jenis penyakit seperti abses, radang sendi, asma, bronkitis, radang usus besar, batuk, diuretik, disentri, demam, diabetes, sakit kepala, flu, asma dan insomnia (Moghadamtousi, et al., 2015). Masyarakat Aceh menggunakan daun sirsak untuk menghilangkan plak pada gigi dan mengobati kaki bengkak (Jannah, et al., 2017).

2.2 Morfologi, Fisiologi dan Aktivitas Bakteri *Staphylococcus haemolyticus*

2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus haemolyticus* berdasarkan Schlegel & Kloos (1975), yaitu :

Domain : Bacteria

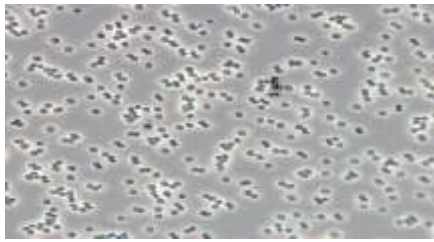
Divisi : Bacillota

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus haemolyticus*



Gambar 2.2 *Staphylococcus haemolyticus*

2.2.2 Morfologi dan fisiologi

Staphylococcus haemolyticus pertama kali diisolasi pada akhir 1060-an, salah satu CoNS, *S. Saprophyticus* diamati pada pasien dengan infeksi saluran kemih (ISK) (John *et al.*, 1978) kemudian, infeksi CoNS pertama kali diidentifikasi pada 1970-an pada pasien dengan perangkat medis invasif dan menetap (Liekweg, *et al.*, 1977). *Staphylococcus haemolyticus* adalah salah satu staphylococcus koagulase-negatif (CoNS) yang menghuni oportunistik pada pasien immunocompromised, terutama pada pasien rawat inap dan pasien dengan implan medis di seluruh dunia (Czekaj *et al.*, 2015). Ciri khas dari *Staphylococcus haemolyticus* adalah kemampuannya untuk membentuk biofilm, yang memainkan peran penting dalam pembentukan infeksi. Eksopolisakarida yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain dan juga menurunkan kemampuannya untuk membentuk biofilm (Rossiet *al.*, 2016).

2.3 Infeksi Klinis Terkait dengan *Staphylococcus haemolyticus*

Spesies ini menyumbang 10-20% dari infeksi CoNS klinis (Renaud *et al.*, 1991) dan merupakan spesies CoNS tertinggi kedua dalam frekuensi dan kepentingan di antara isolat dari infeksi klinis (Szhuenck *et al.*, 2015) Ada beberapa infeksi klinis yang tercatat dengan *Staphylococcus haemolyticus* termasuk bakterimia, meningitis, infeksi mata, infeksi kulit, peritonitis, infeksi saluran kemih, dan disfungsi genital pria (Ferreira *et al.*, 2011). Selain kondisi klinis diatas, *Staphylococcus haemolyticus* juga dicatat pada infeksi yang berbeda seperti prostatitis kronis (Mazzoli, 2010) penyakit seliaka, infeksi kulit yang didapat dari penularan, dan infeksi jaringan lunak (Ssebuahnchez *et al.*, 2012) *Staphylococcus haemolyticus* merupakan salah satu organisme dominan yang mengkolonisasi periuretra dan uretra pada

pria dan wanita, yang secara teratur menyumbang sekitar 10% dari infeksi saluran kemih (ISK) (Gun *et al.*, 1988).

2.4 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat yang memiliki sifat yang dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri (Magani dkk., 2020) Zat tersebut bekerja dengan cara menghambat metabolisme perkembangan pembentukan bakteri. Zat antibakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri bakterisidal dan antibakteri yang dapat membunuh bakteri bakteristatik. Penggunaan antibakteri yang sering digunakan oleh masyarakat, yaitu antibakteri alami. Antibakteri alami merupakan suatu bahan atau sediaan produk yang dihasilkan dari tumbuhan maupun hewan. Agen antibakteri mengandung senyawa-senyawa alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan flavonoid yang berfungsi sebagai zat aktif yang memiliki aktivitas (Munira dkk., 2020) Secara umum berdasarkan Fifendy (2017) mekanisme kerja antibakteri dibagi menjadi lima melalui berbagai cara, yaitu sebagai berikut :

2.4.1 Merusak dinding

Dinding sel memiliki peran penting dalam mempertahankan struktur sel bakteri. Zat antibakteri dapat menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri, yaitu pada struktur dinding sel dengan cara menghambat pembentukan atau membuat perubahan setelah selesai terbentuknya dinding sel bakteri (Fifendy, 2017).

2.4.2 Perubahan Permeabilitas sel

Mekanisme kerja antibakteri dalam membuat perubahan permeabilitas sel, yaitu pada membran sitoplasma mempertahankan bahan tertentu didalam sel dan mengatur aliran keluar atau masuknya bahan-bahan lain, dimana membran tersebut memelihara integritas komponen-komponen seluler. Antibakteri membuat perubahan permeabilitas sel (mentranspor zat yang dibutuhkan sel) mengakibatkan integritas dari membran sitoplasma dirusak, sehingga kerusakan pada membran ini akan menyebabkan terjadinya hambatan pertumbuhan sel atau matinya sel (Fifendy, 2017).

2.4.3 Perubahan molekul protein dan asam Nukleat

Antibakteri dapat mengakibatkan suatu kondisi atau substansi yang membuat perubahan suatu keadaan molekul protein dan asam nukleat. Perubahan ini yang mendenaturasi protein dan asam-asam nukleat mengakibatkan rusaknya sel tanpa dapat memperbaikinya kembali (Fifendy, 2017).

2.4.4 Penghambat kerja Enzim

Bakteri mampu memproduksi suatu enzim dalam proses pembentukan DNA dan RNA sel baik di dalam sel maupun di luar sel. Bila penghambatan kerja enzim terjadi dapat menyebabkan terganggunya metabolisme pembentukan maupun matinya sel bakteri (Fifendy, 2017).

2.4.5 Penghambat sintesis asam Nukleat dan Protein

Penghambat sintesis asam nukleat yaitu penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme, hal ini mengakibatkan kerusakan total pada sel. Proses pembentukan protein pada bakteri berperan penting dalam proses kelangsungan hidup sel. Sintesis protein merupakan proses transkripsi dan translasi adanya antibakteri membuat terjadinya kesalahan pembacaan mRNA hal ini menyebabkan bakteri tidak dapat mensintesis protein sehingga pembentukan bakteri dapat terhambat bahkan menyebabkan kematian sel (Talaro, 2008).

Menurut Wattimena dkk (1981) dalam Kristanti (2014) terdapat banyak faktor dapat mempengaruhi kerja zat antibakteri dalam menghambat atau membunuh bakteri. Setiap faktor yang dapat mempengaruhi kerja zat antibakteri harus dikontrol, tujuannya supaya zat antibakteri dapat bekerja secara efektif. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kerja zat antibakteri yaitu sebagai berikut

1. Konsentrasi atau intensitas Zat Antibakteri

Semakin tinggi konsentrasi atau intensitas zat antibakteri semakin tinggi aktivitas antibakterinya, berarti banyak bakteri terbunuh lebih cepat jika konsentrasi zat tersebut lebih tinggi

2. Jumlah Organisme

Jumlah organisme yang diinokulasikan ke media merupakan faktor penting yang mempengaruhi zona hambat, jumlah inokulum yang lebih sedikit menyebabkan zat antibakteri dapat berdifusi lebih jauh. Sehingga daerah zona hambat yang dihasilkan lebih besar, sedangkan bila inokulum lebih besar maka daerah zona hambat lebih kecil.

3. Ketebalan medium agar

Perbedaan ketebalan media agar dapat mempengaruhi difusi zat antibakteri ke dalam agar, sehingga akan mempengaruhi diameter zona hambat. Semakin tebal medium agar maka akan semakin kecil diameter zona hambat.

4. Komposisi Media

Komposisi media agar yang mengalami perubahan dapat mengubah sifat media sehingga jarak difusi berubah. Media agar dapat memberikan pengaruh terhadap luas zona hambat dalam mempengaruhi aktivitas beberapa jenis bakteri, mempengaruhi kecepatan difusi antibakteri serta mempengaruhi kecepatan pertumbuhan antibakteri.

5. Waktu Inkubasi

Lamanya waktu inkubasi disesuaikan dengan pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan besarnya zona hambat dipengaruhi oleh beberapa jam pertama setelah bakteri diinokulasikan ke medium agar, sehingga zona hambat dapat diamati setelah adanya pertumbuhan bakteri.

6. Suhu

Kenaikan suhu dapat meningkatkan keefektifan suatu zat antibakteri sebab zat antibakteri merusak mikroorganisme melalui suatu reaksi kimia. Reaksi kimia ini dapat dipercepat dengan menaikkan suhu. Kebanyakan bakteri tumbuh baik pada suhu 37°C

7. Spesies Mikroorganisme ; Berbagai spesies mikroorganisme

menunjukkan ketahanan yang berbeda- beda terhadap zat antibakteri.

8. Keasaman (pH)

Mikroorganisme yang hidup dengan pH yang rendah (asam) akan lebih baik dibunuh pada suhu rendah dalam waktu yang singkat, jika dibandingkan dengan mikroorganisme yang hidup pada pH tinggi (basa).

2.5 Metode Kultur Bakteri

Teknik kultur untuk mendapatkan isolat murni terbagi menjadi tiga teknik yaitu :

2.5.1 Metode pour plate (Penuangan)

Teknik kultur untuk mendapatkan isolat murni terbagi menjadi tiga teknik yaitu :Metode pour plate (penuangan) merupakan suatu teknik isolasi bakteri setelah dilakukan pengenceran bakteri secara bertingkat dengan mengambil 1 ml suspensi bakteri diteteskan ke dalam cawan petri kosong secara aseptis ke media cair (45°C) selama 24 jam. Kelebihan dari metode ini yaitu dapat digunakan untuk memperoleh biakan murni (Damayanti dkk., 2020).

2.5.2 Metode streak (goresan)

Metode streak (goresan) merupakan suatu teknik isolasi bakteri dengan menggunakan jarum inokulasi dengan menggoreskan bakteri yang diambil dari atas permukaan media padat. Isolasi dengan menggunakan metode ini mempunyai kelebihan dibandingkan dengan metode lainnya karena koloni bakteri yang dihasilkan merupakan koloni tunggal, bakteri yang kontaminan dapat dengan mudah dibedakan, dan dapat membuat goresan dengan pola tertentu sesuai keinginan. Pengisolasian awal didapatkan isolat bakteri sebanyak empat puluh (Azizah & Soesetyaningsih, 2020).

2.5.3 Metode spread plate (penyebaran)

Metode spread plate (penyebaran) merupakan suatu teknik untuk memperbanyak mikroorganisme di dalam media agar dengan menuangkan stok kultur bakteri keatas media padat. Kelebihan

metode ini yaitu dapat digunakan untuk memperkirakan jumlah bakteri dalam satuan sel (Damayanti dkk., 2020).

2.6 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Untuk mengetahui kemampuan suatu zat dalam menghambat maupun membunuh bakteri. Berdasarkan Pratiwi (2008) berikut ini merupakan beberapa metode untuk menguji aktivitas daya antibakteri, yaitu sebagai berikut :

2.6.1 Metode Dilusi

Metode ini digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM), yaitu konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri serta menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM), yaitu konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri. Metode ini memiliki prinsip, yaitu senyawa antibakteri diencerkan dengan beberapa konsentrasi tertentu dalam media cair yang ditambahkan bakteri uji sampai diperoleh larutan uji agen antibakteri dengan kadar terkecil dan terlihat jernih tanpa adanya bakteri uji ditetapkan sebagai KadarHambat Minimal (KHM).

Kemudian dilakukan kultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji, dimana media cair yang tetap jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM). Kelebihan menggunakan metode ini, yaitu satu konsentrasi suatu agen mikroba yang diuji bisa digunakan untuk melakukan pengujian ke beberapa mikroba uji. Metode dilusi dibedakan menjadi dua, yaitu dilusi cair (broth dilution test) dan dilusi padat (solid dilution test) (Pratiwi, 2008).

2.6.2 Metode Difusi

Metode difusi merupakan suatu terhadap agen antimikroba yang digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroba uji dengan mengamati diameter zona bening pada media. Penggunaan metode ini memiliki prinsip, yaitu menempatkan agen antibakteri pada media padat yang telah diinokulasikan biakan bakteri. Kelebihan menggunakan metode difusi, yaitu mudah dilakukan sebab tidak

memerlukan alat khusus, durasi onset yang lebih cepat pengerjaannya dan mencakup fleksibilitas yang sangat besar dalam memilih bahan antibakteri yang akan diuji (Katrin dkk., 2015). Metode difusi dibagi menjadi lima, yaitu sebagai berikut :

1. Disc diffusion (test kirby dan Bauer)

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri, dilakukan dengan menempatkan kertas cakram (paperdisk) yang telah direndam larutan uji di atas media padat agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri yang akan berdifusi pada media agar tersebut dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh agen antibakteri pada permukaan media agar adalah dengan mengamati zona bening atau bening di sekitar kertas cakram (paper disk) (Mulyadi dkk., 2017). Zona bening yang terbentuk pada permukaan media agar mengindikasikan bahwa terdapat hambatan pertumbuhan bakteri oleh agen antibakteri yang diujikan.

2. Sumursn (Cup)

Metode ini dilakukan dengan membuat sumur pada media agar yang telah diinokulasikan mikroorganisme, kemudian diisi antibakteri yang akan diuji (Pratiwi, 2008). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar parit menunjukkan daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh antibakteri (Maradona, 2013).

3. Parit (Ditch)

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri, dilakukan dengan menempatkan sampel yang diuji ke dalam parit yang dibuat dengan cara memotong media agar ke dalam cawan petri di bagian tengah (membujur) yang setelah itu bakteri digoreskan ke dalam parit yang berisi antibakteri (Pratiwi, 2008). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar parit

menunjukkan daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh antibakteri (Maradona, 2013). Diantara kelima metode difusi, metode disc diffusion atau difusi kertas cakram merupakan metode yang paling sering digunakan, dimana metode ini memiliki kelebihan yaitu sederhana, cepat, mudah pengerjaannya dan murah karena tidak memiliki alat khusus (Mulyadi dkk., 2017).

2.7 Metode Ekstraksi

2.7.1 Maserasi

Kecuali dinyatakan lain, dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang sesuai ke dalam sebuah wadah, diberi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup wadah dengan penutup, beri balutan kain hitam pada wadah dan biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, lakukan pengadukan berulang-ulang, setelah 5 hari hasil penyaringan di saring kembali, residu yang tersisa diperas, ditambahkan cairan penyari secukupnya, lakukan pengadukan, dan dipekatkan dengan cara diuapkan pada tekanan rendah dan suhu 50°C hingga konsentrasi yang dikehendaki (Farmakope Indonesia Edisi III, 1979).

2.8 Media

Media merupakan suatu bahan yang mengandung campuran zat bernutrisi untuk menumbuhkan bakteri. Selain untuk menumbuhkan mikroba, media digunakan juga untuk isolasi maupun inokulasi bakteri, untuk uji fisiologi serta biokimia bakteri. Media yang baik untuk pertumbuhan bakteri harus memenuhi syarat lingkungan pertumbuhan mikroba tersebut, yaitu sumber energinya seperti gula, karbon, mineral, vitamin dan gas, tekanan osmosis isotonik, pH yang normal atau alkali, suhu yang sesuai dan steril. Kestabilan dan kesinambungan pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri sangat tergantung pada ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai jenisnya (Addina, 2014).

Media Nutrient Agar (NA) merupakan suatu media yang berbentuk serbuk berwarna coklat muda yang apabila setelah penggunaan akan berbentuk padat sebab memiliki kandungan agar sebagai pematatnya. Media ini memiliki komposisi terpenting yaitu karbohidrat dan protein yang terdapat dalam air daging serta pepton sehingga sesuai dengan kebutuhan bakteri untuk tumbuh dan berkembang sebagian besar bakteri salah satunya bakteri *Streptococcus mutans*. Pepton merupakan sumber utama dari nitrogen organik yang sebagian merupakan asam amino dan peptide rantai panjang, yang memiliki fungsi sebagai pematat sebab sifatnya yang mudah membeku. Serta karbohidrat yang tidak mudah teruraikan oleh mikroorganisme (Addina, 2014) Adapun komposisi media Nutrient Agar (NA) yaitu lemco beef extract 1 g, yeast extract 2 g, peptone 5 g, Natrium Klorida 5 g dan agar 15 g (Oxoid, 2021).

Media Mueller Hinton Agar (MHA) adalah media terbaik untuk pemeriksaan uji efektivitas antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer pada bakteri non fastidious baik aerob maupun aerob fakultatif. Media ini ditemukan oleh Mueller dan Hinton tahun 1941, pada awalnya media Mueller Hinton digunakan untuk mengisolasi bakteri *Neisseria sp.* Komposisi media Mueller Hinton Agar adalah beef extract 2 gram, Acid Hydrolysate of Casein 17,5 gram, Starch 1,5 gram, Agar 17 gram, dan Aquades 1 liter. Media MHA digunakan untuk uji efektivitas antibakteri karena semua bakteri dapat tumbuh karena media ini bukan merupakan media selektif dan media differensial, mengandung starch (tepung padi) yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan bakteri sehingga tidak mengganggu saat uji efektivitas antibakteri, rendah sulfonamide, trimethoprim, dan tetracycline inhibitor dan banyak data penelitian yang telah dikumpulkan tentang uji sensitivitas menggunakan media ini (Atmojo, 2016).

2.9 Bahan perbandingan

2.9.1 Antibiotik

Antibiotik berasal dari bahasa latin yaitu “Anti” artinya lawan dan “Bios” artinya hidup maka antibiotik adalah senyawa kimia yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup seperti fungi dan bakteri yang dibuat secara semisintesis maupun sintesis yang dapat menghambat proses pertumbuhan suatu mikroorganisme, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Berdasarkan beberapa spektrum kerjanya antibiotik dibagi menjadi dua kelompok yaitu :

1. Spektrum sempit (*Narrow spectrum*) ; Aktif terhadap beberapa jenis bakteri saja, misalnya hanya berkerja pada bakteri gram negatif atau gram positif saja. Contohnya streptomisin, kanamisin, klindamisin, eritromisin, gentamisin (Amin, 2014).
2. Spektrum luas (*Broad spectrum*) ; Aktif terhadap lebih banyak bakteri, baik bakteri gram negatif maupun bakteri gram positif. Contohnya tetrasiklin, ampicillin, rifampisin, amoxicillin, kloramfenikol (Amin, 2014).

2.10 Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu cara untuk menghilangkan atau membunuh mikroorganisme (bakteri, jamur, protozoa, mycoplasma, dan virus) dari alat- alat, bahan serta lingkungan kerja melalui berbagai proses. Proses sterilisasi penting dalam proses uji aktivitas antibakteri sebab dalam proses biakan bakteri murni diperlukan keadaan yang benar-benar steril pada penggunaan alat dan media. Metode sterilisasi terbagi menjadi tiga kelompok, yaitu sebagai berikut :

2.10.1 Sterilisasi Fisik

Sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan cara :

1. Pemijaran menggunakan api langsung adalah proses sterilisasi dengan membakar alat secara langsung, contoh alat seperti pinset, batang L, jarum inokulum, dan lain-lain.

2. Sterilisasi panas kering merupakan proses sterilisasi dengan menggunakan oven yang umumnya pada suhu 160-170oC selama 1-2 jam. Penggunaan sterilisasi ini sangat baik untuk sterilisasi serbuk yang tidak stabil terhadap uap air, alat yang terbuat dari kaca seperti gelas ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, dan lain-lain.
3. Sterilisasi uap panas merupakan suatu proses sterilisasi dengan konsep seperti mengukus. Bila penggunaan sterilisasi uap panas di bawah tekanan menggunakan autoklaf. Sterilisasi cara ini umumnya dilakukan dalam uap jenuh dengan waktu 15 menit pada suhu 121Oc (Fauzi, 2013).

2.10.2 Sterilisasi Kimia

Sterilisasi kimia merupakan sterilisasi secara kimiawi menggunakan desinfeksi alat atau merendamnya dengan menggunakan larutan desinfektan seperti alkohol atau etanol. Biasanya penggunaan antiseptik kimia ipergunakan dan dibiarkan menguap sepertinya halnya desinfektan alkohol. Proses sterilisasi secara kimia dilakukan secara langsung dengan memberikan alat atau media yang akan disterilkan. Pemilihan larutan antiseptik disesuaikan dengan kebutuhan (Fauzi, 2013).

2.10.3 Sterilisasi Mekanik (Filtrasi)

Sterilisasi secara mekanik merupakan sterilisasi menggunakan suatu saringan dengan ukuran pori yang sangat kecil (0,22 mikro atau 0,45 mikro) sehingga mikroorganisme tertahan pada saringan tersebut. Penggunaan sterilisasi ini diperuntukan untuk sterilisasi bahan yang peka terhadap panas, seperti larutan serum, enzim, toksin, ekstrak sel dan lain-lain (Fauzi, 2013).

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan september - Oktober 2023.

3.3.2 Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Laboratorium Mikrobiologi sebagai lokasi untuk kultur bakteri dan uji aktivitas antibakteri. Laboratorium Fitokimia sebagai lokasi untuk pembuatan ekstrak etanol dan Biji sirsak (*annona muricata L.*) Determinasi tumbuhan dilakukan di laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman Samarinda.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, Laminar Air Flow (LAF), inkubator (Heraeus®), autoklaf (KT-40 ALP®), vortex mixer (Dlab®), hot plate, waterbath, cawan petri (Anumbra®), gelas ukur (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), rak, tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, L rod, gelas kimia (Pyrex®), jarum inokulum, pipet tetes (Pyrex®), pipet mikro, batang pengaduk, bunsen, corong, blender, dan jangka sorong.

3.2.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan adalah biji sirsak (*Annona muricata L.*), suspensi bakteri *Staphylococcus haemolyticus*, media Nutrient agar (NA), media Mueller Hinton Agar (MHA), media Natrium Broth (NB), NaCl Fisiologis 0,9 % larutan standar Mc farland 0,5, etanol 96% aquadest steril, antibiotik Chloramphenicol, larutan Dimethyl sulfoxide 1% (DMSO 1%) larutan H₂SO₄ 2N, larutan FeCl₃ 2 %, larutan HCL pekat pereaksi Mayer, pereaksi

Wagner, pereaksi Dragendrof, pereaksi Liberman burchardad, serbukMagnesium (Mg), cotton swap, kertas coklat alumunium foil, kertas cakram steril (Paper disk blance), dan kapas.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian kualitatif dengan metode rancangan penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental adalah salah satu jenis dari penelitian kuantitatif yang digunakan untuk mengukur sebab akibat dengan membandingkan efek variasi variabel bebas terhadap variabel terkait melalui pengendalian variabel bebas. Kelompok pertama merupakan kelompok yang diberikan perlakuan (kelompok eksperimen) sedangkan kelompok kedua tidak diberikan perlakuan (kelompok kontrol) (Mustafidah dkk., 2011)

3.3.2 Populasi, Sampel dan Teknik Sampling

1. Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah *Staphylococcus heamolyticus* diperoleh dari biakan murni Laboratorium indilab. Sebelum penggunaan bakteri diidentifikasi terlebih dahulu dengan pengamatan morfologi kolonibakteri.

2. Sampel

Sampel yang digunakan, yaitu biji buah sirsak (*Annona muricata L.*). Biji buah sirsak yang digunakan untuk membuat ekstrak didasarkan dengan pemilihan kriteria yang baik.

3. Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu simple random sampling (Sampel acak sederhana). simple random sampling merupakan teknik pengambilan sampel dari populasi secara acak sederhana, sehingga setiap jenis populasi mempunyai peluang yang sama besar untuk digunakan sebagai sampel. Cara pengambilan sampel dan lokasi yang akan digunakan secara acak, dimana pemilihan

sampel dan lokasi yang akan digunakan telah mewakili populasi dan wilayah secara keseluruhan (bersifat homogen) (Sugiyono, 2012).

3.3.3 Fokus penelitian

Penelitian ini berfokus pada pengujian antibakteri ekstrak biji buah sirsak (*Annona muricata L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus* dengan mengukur diameter zona hambat (zona bening disekitar cakram) pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30%.

3.3.4 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data penelitian ini adalah dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima kali pengulangan. Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahap, yaitu tahap pengumpulan bahan baku, tahap persiapan dan tahap perlakuan. Pada tahap pengumpulan dilakukan penyiapan alat dan bahan, determinasi tanaman, pembuatan ekstrak biji buah sirsak (*Annona muricata L.*) dan skrining fitokimia. Tahap persiapan dilakukan sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media Mueller Hinton Agar (MHA), Nutrient agar (NA) dan Nutrient Broth (NB), pembiakan bakteri uji, pembuatan suspensi bakteri uji, pembuatan konsentrasi ekstrak biji buah sirsak, sedangkan pada tahap perlakuan dilakukan uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram.

3.4 Tahap Penelitian

3.4.1 Pengumpulan bahan baku

Menyediakan bahan-bahan yang akan digunakan dan sampel uji biji sirsak (*annona muricata L*) pemilihan sampel didasarkan dengan pemilihan kriteria baik. Dilakukan perajangan lalu dikeringkan dalam suhu ruang, kemudian biji buah sirsak yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk biji buah sirsak di saring menggunakan pengayak dengan ukuran mesh 40. Hasilnya ditimbang dan di ambil 200 g yang akan dilakukan ekstrak dengan metode maserasi.

3.4.2 Determinasi

Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodeversitas Hutan, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman Samarinda.

1. Ekstraksi

Serbuk Biji sirsak diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam pada suhu kamar ($\pm 20-25^{\circ}\text{C}$) dengan dilakukan pengadukan secara berkala. Setelah hari ketiga, hasil maserasi yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Kemudian filtrat dipekatkan dengan menggunakan waterbath sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang dan disimpan dalam botol vial sertadihitung rendamannya.

$$\% \text{ Rendaman ekstrak} = \frac{\text{oo kak kal } ()}{\text{oo iplia a ikak } ()} \times 100\%$$

Hasil ekstraksi terlebih dahulu diujikan bebas etanol dengan cara mengambil sedikit ekstrak pada tabung, kemudian ditambahkan dengan asam asetat dan asam sulfat, lalu dipanaskan. Jika larutan tidak berbau ester maka ekstrak tersebut telah bebas etanol (Herlita dkk., 2019).

2. Skrining Fitokimia

a. Pemeriksaan Organoleptik

Uji ini menggunakan panca indera guna mendeskripsikan warna, bau dan rasa (Depkes RI, 2008).

b. Uji Fitokimia

1) Uji Alkaloid

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan mengambil 5 mL ekstrak biji buah sirsak kemudian ditambahkan 2 tetes H_2SO_4 2N, lalu dituangkan ke dalam plat tetes. Uji positif bila ditetesi pereaksi Mayer terlihat endapan putih, ditetesi pereaksi Wagner terbentuk

endapan coklat dan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan merah bata atau jingga (Erviani dkk., 2019).

2) Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara sampel ditambahkan dengan air suling 10 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu dididihkan kemudian setelah mendidih didinginkan lalu kocok selama 10 detik. Amati jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm yang bertahan tidak kurang dari 10 menit dan saat ditambahkan satu tetes HCl 2N buih tidak hilang makasampel positif mengandung saponin (Depkes RI, 1995).

3) Uji Tanin

Identifikasi tanin dilakukan dengan mengambil 5 mL ekstrak biji buah sirsak kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan 2% FeCl₃ sampai terjadi perubahan warna. Uji positif terlihat dari terbentuknya warna biru kehijauan sampai hitam (Winastri dkk., 2020).

4) Uji Steroid

Identifikasi steroid dilakukan dengan mengambil 5 mL ekstrak etanol biji buah sirsak kemudian ditambahkan 4 tetes pereaksi Liebermann Burchard. Uji positif dengan terbentuknya warna biru (Agus Wibowo dkk., 2014).

5) Uji Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan mengambil 5 mL ekstrak etanol biji buah sirsak serta menambahkan 0,05 g serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok. Uji positif terlihat dari terbentuknya warna merah, kuning ataupun jingga (Winastri dkk., 2020)

3.4.3 Tahap Persiapan

1. Sterilisasi

Alat dan bahan yang akan digunakan dicuci dan dikeringkan terlebih dahulu. Selanjutnya, disterilisasi tujuannya untuk meminimalkan terjadinya kontaminasi. Sterilisasi uap dilakukan pada alat-alat berbahan kaca menggunakan autoklaf pada tekanan 2 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi alat yang tidak tahan panas dilakukan sterilisasi dengan menggunakan alkohol 90% atau pemijaran menggunakan api bunsen (Mengkido dkk., 2019) Media disterilisasi di autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C (Mahmudah & Atun, 2017) Proses sterilisasi uap dibungkus menggunakan kertas coklat.

2. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA) dan media Nutrient Agar (NA)

Menimbang media MHA sebanyak 38g, kemudian ditambahkan aquadest 1000 ml. Selanjutnya media MHA diaduk dan dipanaskan menggunakan hot plate. Selanjutnya media MHA di autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C untuk mensterilkan media. Kemudian media dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 10 mL dan dilakukan didalam Laminar Air flow (Mahmudah & Atun, 2017) Medium Nutrient Agar (NA) dibuat dengan cara menimbang 0,2 g dan dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Larutan dipanaskan sampai bubuk Nutrient Agar (NA) larut sempurna tetapi tidak sampai mendidih. Kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf tekanan sebesar 2 atm selama 15 menit pada suhu 121°C . Setelah sterilisasi selesai dan suhu autoklaf mencapai 40°C , media dituangkan pada cawan petri (Oxoid, 2021).

3. Peremajaan Bakteri Uji

Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan metode streak plate (goresan). Biakan murni bakteri *Staphylococcus haemolyticus* diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada media NA secara aseptik. Kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam (Yanti *et al.*, 2017).

4. Pembuatan Suspensi bakteri uji

Sebanyak 1 ose bakteri uji disuspensikan dalam 5 mL NaCl fisiologis 0,9% dalam tabung reaksi dan dihomogenkan dengan vortex mixer selama 15 detik, kemudian standarisasi kekeruhannya dengan membandingkan suspensi bakteristandar 0,5 Mc Farland (konsentrasi bakteri sekitar 1,5x10⁸ CFU/ml) (Khumaidi dkk., 2020).

5. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dari ekstrak etanol biji sirsak yang dilarutkan dengan Dimethyl Sulfoxide (DMSO) DMSO 1%. DMSO 1% dibuat dengan 1 mL dilarutkan dengan aquadest steril sampai 100 mL (Soemarie *et al.*, 2018) Ekstrak dibuat dalam tiga konsentrasi berbeda yaitu 10%, 20%, dan 30%.

Untuk kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Chloramphenicol, kontrol positif dibuat dari sediaan obat kapsul Chloramphenicol 250 mg. Satu kapsul antibiotik Chloramphenicol dibuka cangkang kapsulnya kemudian timbang sebanyak 30 mg. Setelah itu dilarutkan dalam DMSO 5 mL untuk memperoleh larutan stok Chloramphenicol 250 µg / 50 µL (Kumayas *et al.*, 2015) Kontrol negatif menggunakan DMSO (Utomo *et al.*, 2018).

3.4.4 Tahap Perlakuan

1. Uji Aktivitas Bakteri

Disiapkan 5 cawan petri dan dituang media MHA yang telah dicairkan pada suhu 45°C sebanyak ± 15 mL kedalam cawan petri, dibiarkan memadat. Dimasukan *cotton swap* ke dalam suspensi bakteri *Staphylococcus haemolyticus*, lalu diusapkan pada permukaan media MHA dengan metode streak plate. Dibiarkan selama 5 menit agar suspensi bakteri dapat meresap kedalam media agar.

Setelah itu diambil paper disc blank menggunakan pinset steril, dimasukkan kedalam ekstrak etanol biji sirsak konsentrasi 10%, 20%, dan 30% yang sebelumnya telah dilarutkan dengan larutan DMSO 1% kemudian diletakkan dipermukaan media dan pada masing-masing konsentrasidibuat 5 kali pengulangan pada cawan petri. Kemudian dilakukan hal yang sama pada perlakuan kontrol positif menggunakan larutan Chloramphenicol dan kontrol negatif DMSO 1% (Soemarie *et al.*, 2018).

Gambar rumus (3.1)

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

Keterangan :

t = jumlah perlakuan

r = jumlah mengulangn = jumlah sampel

$$= (t-1)(r-1) \geq 15$$

$$= (5-1)(r-1) \geq 15$$

$$= 4 \cdot (r-1) \geq 15$$

$$= 4r - 4 \geq 15$$

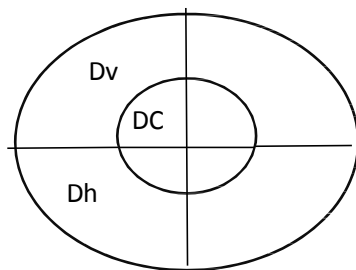
$$= 4r \geq 19$$

$$= \frac{19}{4}$$

$$r = 4,75 \approx 5$$

Berdasarkan perhitungan persamaan diatas diperoleh jumlah ulangan perlakuan penelitian ini adalah 5 ulangan. Pengukuran diameter daya hambat dapat dihitung dengan jangka sorong menggunakan rumus (Kristiani, 2014). Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Diameter daya hambat yang diperoleh dari hasil pengukuran dikonversikan kedalam presentase aktivitas penghambatan dengan menggunakan persamaan 3.5 sebagai berikut :

Gambar : Pengukuran Diameter Zona Hambat



$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Gambar Rumus (3.2)

Keterangan :

Dv : Diameter Vertikal

Dh : Diameter horizontal

Dc : Diameter cakram

3.4.5 Pengelolahan data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter zona hambat dari uji aktivitas antibakteri biji sirsak dianalisis menggunakan program SPSS. Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* untuk menilai sebaran kelompok perlakuan berdistribusi normal atau tidak. Normalitas terpenuhi bila nilai signifikansi lebih besar dari α (0,05), berarti terdistribusi normal. Sebaliknya apabila nilai signifikansi lebih kecil dari α (0,05), berarti terdistribusi tidak normal. Penggunaan uji *Shapiro Wilk* karena memiliki konsistensi normalitas yang tinggi pada besar sampel 50 maupun kurang dari 50 (Oktaviani & Notobroto,2014).

Apabila kedua uji menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen akan dilanjutkan dengan uji Anova. Namun apabila uji normalitas dan homogenitas tidak terpenuhi maka memakai uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui pengaruh dari variabel bebas (X), yaitu konsentrasi ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap variabel terikat (Y), yaitu *Staphylococcus haemolyticus* dengan tingkat kepercayaan 95%. Post Hoc uji *Mann-Whitney* digunakan untuk mengetahui perbedaan aktivitas dari tiap-tiap variasi konsentrasi perlakuan (Firdausdkk., 2017).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1.1 Determinasi Tumbuhan

Hasil determinasi sampel yang dilakukan di laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman Samarinda menunjukkan bahwa sampel yang diuji termasuk dalam family *Annonaceae* dengan spesies *Annona muricata L.*

4.1.2 Ekstraksi Biji Sirsak (*Annona muricata L.*)

Hasil sortasi biji sirsak dimaserasi dengan 2000 mL etanol 96% selama 3 x 24 jam pada suhu kamar ($\pm 20-25^{\circ}\text{C}$) dengan dilakukan pengadukan secara berkala. Hasil maserasi diperoleh ekstrak kental etanol biji sirsak berwarna coklat dan bertekstur lengket seperti madu sebanyak 26, 23 gr dengan rendemen 13,11%, sesuai tabel dibawah ini :

Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi Biji Sirsak

Metode Ekstraksi	Konsentrasi Pelarut	Waktu Ekstraksi	Bobot Ekstrak	Rendemen Ekstrak
Maserasi	96%	72	26,23 g	13,11g

4.1.3 Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak biji sirsak

Hasil uji fitokimia ekstrak biji sirsak dapat dilihat pada tabel 4.2 dibawah ini :

Tabel 4.2 Hasil skrining fitokimia biji sirsak

Golongan Senyawa	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Uji Alkaloid (Erviani dkk., 2019)	H ₂ SO ₄ 2N + Mayer	Terdapat endapan putih	+
	H ₂ SO ₄ 2N + Wagner	Terbentuk endapan coklat	+
	H ₂ SO ₄ 2N + Dragendorff	Terbentuk endapan merah Bata	+
Uji Saponin	Air + HCl 2N	Terbentuk buih	+
Uji Tanin (Winastri dkk., 2020)	FeCl ₃	Timbul warna hijau kehitaman	+

Uji Steroid (Agus Wibowo 2014)	(Agus dkk.,	Tetes liberman burchard	Terbentuk biru	warna	+
Uji (Winastri 2020)	Flavonoid dkk.,	Serbuk magnesium HCl	Terbentuk + kuning	warna	+

Keterangan :

(+) positif : mengandung senyawa yang diuji

(-) negatif : Tidak mengandung senyawa yang diuji

Pemeriksaan skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*). Hasil uji fitokimia ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*) menunjukkan hasil bahwa pada uji Alkaloid (Erviani dkk., 2019), dengan pereaksi H₂SO₄ 2N + Mayer, hasil pengamatan diperoleh terdapat endapan putih dan hasilnya positif. H₂SO₄ 2N + Wagner hasil pengamatan diperoleh terdapat endapan coklat dan hasilnya positif. H₂SO₄ 2N + Dragendorff hasil pengamatan diperoleh terbentuk endapan merah bata dan hasilnya positif. Pada golongan senyawa uji saponin (Depkes RI, 1995) dengan menggunakan pereaksi Air + HCl 2N, dari hasil pengamatan diperoleh terbentuk buih dan hasilnya positif.

Pada uji Tanin (Winastri dkk., 2020), dengan pereaksi FeCl₃, hasil pengamatan diperoleh timbul warna hijau kehitaman dan hasilnya positif. Pada uji Steroid (Agus Wibowo dkk, 2014) dengan pereaksi tetes liberman burchard, hasil pengamatan diperoleh terbentuk warna biru dan hasilnya positif. Sedangkan pada uji Flavonoid (Winastri dkk., 2020), dengan pereaksi serbuk magnesium + HCl, dimana hasil pengamatan diperoleh terbentuk warna kuning dan hasilnya positif. Sehingga disimpulkan bahwa hasil uji fitokimia ekstrak biji sirsak mengandung senyawa yang diuji yaitu uji alkaloid, uji saponin, uji tanin, uji steroid, uji flavonoid.

Sholekah (2017) mengemukakan bahwa kandungan metabolit sekunder (fitokimia) dalam suatu tanaman dipengaruhi oleh faktor

internal dan eksternal. Faktor internal yang paling mempengaruhi kualitatif komponen senyawa kimia adalah faktor genetik. Sedangkan faktor eksternal yang mempengaruhi adalah intensitas cahaya matahari, suhu lingkungan, kelembaban, pH tanah, kandungan unsur hara didalam tanah dan ketinggian tempat. Faktor ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang paling berpengaruh terhadap proses tanaman.

Serangkain proses metabolisme dalam tumbuhan akan terpengaruh sehingga senyawa yang dihasilkan dari proses yang dihasilkan dari proses tersebut akan berbeda-beda setiap elevasi, dimana elevasi juga mempengaruhi suhu lingkungan. Keadaan tersebut turut berpengaruh terhadap proses biokimia dalam tumbuhan.

4.1.4 Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata l.*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus*

Tabel 4.3 Diameter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata l.*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus*

No	Perlakuan	Diameter Zona Hambat			Positif (+)	Negatif (-)
		10%	20%	30%		
1	U1	1.785 mm	8.935 mm	9.755mm	9.115 mm	-
2	U2	1.385 mm	3.99 mm	8.445 mm	7.02 mm	-
3	U3	1.655 mm	1.405 mm	3.375 mm	5.845 mm	-
4	U4	2.785 mm	2.855 mm	4.545 mm	7.34 mm	-
5	U5	6.38 mm	4.775 mm	2.585 mm	8.005 mm	-
6	Rata-rata ± Sd	2.798 ± 1.86	4.392 ± 1.86	5.741 ± 3.80	7.465 ± 2.49	-
7	Kriteria	Lemah	Lemah	Sedang	Sedang	-

Keterangan : (-) menunjukkan tidak terbentuk zona hambat
(+) menunjukkan terbentuk zona hambat

Berdasarkan tabel 4.3 uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata l.*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus* menunjukkan pertumbuhan bakteri

staphylococcus haemolyticus memiliki aktivitas antibakteri yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi.

Nilai rata-rata yang diperoleh dari perlakuan pada bakteri *Staphylococcus haemolyticus* pada konsentrasi 10% yaitu 2,798 dengan standar deviasi 1,86, rata-rata konsentrasi 20% yaitu 4,392 dengan standar deviasi 1,86, rata-rata konsentrasi 30% yaitu 5,741 dengan standar deviasi 3,80, rata-rata kontrol positif sebesar 7,465 dengan standar deviasi 2,49. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi etanol biji sirsak (*annona muricata l.*) memiliki daya hambat antibakteri dengan kriteria sedang pada bakteri bakteri *staphylococcus haemolyticus*.

Perlakuan aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata l.*) dilakukan terhadap satu bakteri yaitu *Staphylococcus haemolyticus* sebagai bakteri uji. Perlakuan dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi dipilih karena memiliki kelebihan yaitu prosedurnya yang sederhana (mudah dan praktis) untuk dilakukan dan merupakan metode serbaguna bagi semua bakteri patogen yang tumbuh cepat dan sering digunakan dalam uji kepekaan antibiotik dalam program pengendalian mutu (Mapila, 2012).

Metode difusi dilakukan dengan cara menjenuhkan kertas cakram kedalam setiap konsentrasi larutan uji dan kontrol positif serta negatif, lalu kertas cakram diletakkan diatas media MHA yang telah ditanam 0,1ml bakteri uji 0,5 Mc Farland. Langkah selanjutnya media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. pengamatan dilakukan dengan mengamati zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram dari masing-masing konsentrasi larutan uji, lalu diukur diameter dari zona bening tersebut (Mapila, 2012).

Ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata l.*) memiliki kandungan senyawa sebagai antibakteri, senyawa tersebut adalah alkaloid, saponin, tanin, steroid, flavonoid. Alkaloid berfungsi

antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk dan menyebabkan kematian sel (Darsana, 2012). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu stabilitas membran sel dan menyebabkan keluarnya komponen penting sel bakteri yaitu protein dan asam nukleat (Juliantina, 2018).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dapat mengerutkan dinding sel atau membrane sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Akibat permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan terhambat atau bahkan mati (Darsana, 2012). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri mikrosom dan lisosom (Toy, T.S.S, 2015).

4.1.5 Uji Statistik

Data yang diperoleh dari hasil penelitian terlebih dahulu diuji dengan uji normalitas untuk mengetahui data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Uji yang digunakan yaitu uji *Shapiro Wilk*. Apabila data tidak terdistribusi normal maka akan dilanjutkan dengan uji dengan uji *Kruskal Wallis H* dan juga uji *Mann Whitney U Test*.

Tabel 4.4 Uji *Shapiro Wilk* data *Staphylococcus haemolyticus*

Konsentrasi	<i>P-Value</i>
10%	0.854
20%	0.570
30%	0.345
Positif (+)	0.204
Negatif (-)	-

Berdasarkan tabel 4.4 Hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* diketahui pada konsentrasi 10% diperoleh nilai p value sebesar $0,854 > 0,05$, pada konsentrasi 20% diperoleh nilai p value sebesar $0,570 > 0,05$, pada konsentrasi 30% diperoleh nilai p value sebesar $0,345 > 0,05$, dan kontrol positif diperoleh nilai p value sebesar $0,204 > 0,05$, sehingga data tersebut berdistribusi normal. Disimpulkan bahwa data berdistribusi normal sehingga tidak

dilakukan uji *Kruskal Wallis H* dan juga uji *Mann Whitney U Test*. Uji *Kruskal Wallis H* dan juga uji *Mann Whitney U Test* umumnya digunakan oleh peneliti sebagai alternatif dari uji anova ketika salah satu atau seluruh sebaran data tidak berdistribusi normal. Sehingga peneliti lanjut pada uji deskriptif.

Tabel 4.5 Uji *Descriptives* data *Staphylococcus haemolyticus*

Konsentrasi	Jumlah Pengurangan	Mean	Min	Max	SD
10%	5	1.649	6.38	2.785	7.47
20%	5	3.673	3.99	8.935	3.370
30%	5	5.741	2.585	9.755	3.178
Positif (+)	5	4.880	7.02	9.115	3.977
Negatif (-)	-	-	-	-	-

Berdasarkan tabel 4.5 Hasil uji *descriptives* data bakteri *Staphylococcus haemolyticus* di dapatkan pada konsentrasi 10% diperoleh nilai mean sebesar 1.649, nilai minimum sebesar 6.38, nilai maximum sebesar 2.785 dan standar deviasi sebesar 7.47. Pada konsentrasi 20% diperoleh nilai mean sebesar 3.673, nilai minimum sebesar 3.99, nilai maximum sebesar 8.935 dan standar deviasi sebesar 3.370. Pada konsentrasi 30% diperoleh nilai mean sebesar 5.741, nilai minimum sebesar 2.585, nilai maximum sebesar 9.755 dan standar deviasi sebesar 3.178. Pada kontrol positif diperoleh nilai mean sebesar 4.880, nilai minimum sebesar 7.02, nilai maximum sebesar 9.115 dan standar deviasi sebesar 3.977.

Tabel 4.6 Perbandingan kontrol positif dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%

Kontrol	Konsentrasi		
	10%	20%	30%
Positif (+)	Korelasi 0.502	Korelasi 0.757	Korelasi 0.29

Berdasarkan tabel 4.6 Perbandingan kontrol positif dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% menggunakan uji *paired samples t test* dimana korelasi antara kontrol positif dengan konsentrasi 20% memiliki korelasi yang kuat sebesar 0.757 atau 75.7%, diikuti

dengan konsentrasi 10% sebesar 0.502 atau 50.2% dan korelasi yang lemah pada konsentrasi 30% sebesar 0.29 atau 29%

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pembuatan ekstrak etanol biji sirsak

Biji sirsak yang telah di sortir dan di cuci bersih, kemudian di keringkan dengan diangin-anginkan dan terhindar dari sinar matahari langsung. Pengeringan dengan cara ini bertujuan untuk menghindari kerusakan pada zat aktif yang terkandung dalam simplisia karena sinar ultraviolet dan suhu tinggi (Winangsih dkk., 2013) Setelah kering, kemudian biji sirsak diblender hingga menjadi serbuk. Tujuannya untuk memperluas permukaan agar senyawa dapat terekstraksi dengan sempurna sehingga interaksi pelarut dan senyawa yang diambil dapat lebih efektif. Semakin kecil ukuran simplisia maka semakin luas bidang kontak antara simplisia dengan pelarut. Hal ini menyebabkan kecepatan untuk mencapai kesetimbangan sistem menjadi lebih besar (Ningsih dkk., 2016).

Kemudian serbuk biji sirsak diekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi adalah teknik ekstraksi di mana bahan direndam dengan pelarut tanpa dipanaskan atau dipanaskan dengan suhu rendah. Keunggulan metode ini yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Pada saat proses perendaman bahan, terjadi pemecahan dinding dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang terdapat pada sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut yang digunakan (Yuniwati dkk., 2021).

Proses maserasi dalam penelitian ini diikuti dengan pengadukan secara berkala. Pengadukan berkala bertujuan untuk mencegah memadatinya serbuk sehingga pelarut sulit menembus bahan dan kesulitan menyari zat aktif (Ningsih dkk., 2016). Pelarut yang digunakan pada proses maserasi adalah etanol 96%. Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena sifatnya selektif,

tidak beracun, absorpsi baik, dan mampu mengekstrak yang tinggi sehingga mampu mengekstrak senyawa yang bersifat polar, non polar, dan semi polar. Etanol 96% lebih mudah berpenetrasi ke dalam dinding sel dibandingkan etanol dengan konsentrasi rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt dkk., 2021).

Proses ekstraksi yang dilakukan adalah dengan metode maserasi. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang di ekstrak tidak akan rusak (Pratiwi, 2010), maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Menurut Trifani (2012) etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sempel dari pada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat (Novira *et.al*, 2021).

Hasil sortasi biji sirsak kemudian dimaserasi dengan 2000 mL etanol 96% selama 3 x 24 jam pada suhu kamar ($\pm 20-25^{\circ}\text{C}$) dengan dilakukan pengadukan secara berkala. Hasil maserasi diperoleh ekstrak kental etanol biji sirsak berwarna coklat dan bertekstur lengket seperti madu sebanyak 26, 23 gr dengan rendeman 13,11%

4.2.2 Hasil Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak biji sirsak

Pemeriksaan skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit skunder yang terkandung dalam ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*). Hasil uji fitokimia ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*) menunjukkan hasil bahwa pada uji Alkaloid (Erviani dkk., 2019), dengan pereaksi H_2SO_4 2N + Mayer, hasil pengamatan diperoleh terdapat endapan putih dan hasilnya positif. H_2SO_4 2N + Wagner hasil pengamatan diperoleh terdapat

endapan coklat dan hasilnya positif. H_2SO_4 2N + Dragendorff hasil pengamatan diperoleh terbentuk endapan merah bata dan hasilnya positif. Pada golongan senyama uji saponin (Depkes RI, 1995) dengan menggunakan pereaksi Air + HCl 2N, dari hasil pengamatan diperoleh terbentuk buih dan hasilnya positif.

Pada uji Tanin (Winastri dkk., 2020), dengan pereaksi FeCl_3 , hasil pengamatan diperoleh timbul warna hijau kehitaman dan hasilnya positif. Pada uji Steroid (Agus Wibowo dkk, 2014) dengan pereaksi tetes liberman burchard, hasil pengamatan diperoleh terbentuk warna biru dan hasilnya positif. Sedangkan pada uji Flavonoid (Winastri dkk., 2020), dengan pereaksi serbuk magnesium + HCl, dimana hasil pengamatan diperoleh terbentuk warna kuning dan hasilnya positif. Sehingga disimpulkan bahwa hasil uji fitokimia ekstrak biji sirsak mengandung senyawa yang diuji yaitu uji alkaloid, uji saponin, uji tanin, uji steroid, uji flavonoid.

Sholekah (2017) mengemukakan bahwa kandungan metabolit sekunder (fitokimia) dalam suatu tanaman dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang paling mempengaruhi kualitatif komponen senyawa kimia adalah faktor genetik. Sedangkan faktor eksternal yang mempengaruhi adalah intensitas cahaya matahari, suhu lingkungan, kelembaban, pH tanah, kandungan unsur hara didalam tanah dan ketinggian tempat. Faktor ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang paling berpengaruh terhadap proses tanaman.

Serangkain proses metabolisme dalam tumbuhan akan terpengaruh sehingga senyawa yang dihasilkan dari proses yang dihasilkan dari proses tersebut akan berbeda-beda setiap elevasi, dimana elevasi juga mempengaruhi suhu lingkungan. Keadaan tersebut turut berpengaruh terhadap proses biokimia dalam tumbuhan.

4.2.3 Hasil Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus*

Berdasarkan hasil penelitian diketahui uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus* menunjukkan pertumbuhan bakteri *staphylococcus haemolyticus* memiliki aktivitas antibakteri yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi.

Nilai rata-rata yang diperoleh dari perlakuan pada bakteri *Staphylococcus haemolyticus* pada konsentrasi 10% yaitu 2,798 dengan standar deviasi 1,86, rata-rata konsentrasi 20% yaitu 4,392 dengan standar deviasi 1,86, rata-rata konsentrasi 30% yaitu 5,741 dengan standar deviasi 3,80, rata-rata kontrol positif sebesar 7,465 dengan standar deviasi 2,49. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi etanol biji sirsak (*annona muricata L.*) memiliki daya hambat antibakteri dengan kriteria sedang pada bakteri bakteri *staphylococcus haemolyticus*.

Perlakuan aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata L.*) dilakukan terhadap satu bakteri yaitu *Staphylococcus haemolyticus* sebagai bakteri uji. Perlakuan dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi dipilih karena memiliki kelebihan yaitu prosedurnya yang sederhana (mudah dan praktis) untuk dilakukan dan merupakan metode serbaguna bagi semua bakteri patogen yang tumbuh cepat dan sering digunakan dalam uji kepekaan antibiotik dalam program pengendalian mutu (Mapila, 2012).

Metode difusi dilakukan dengan cara menjenuhkan kertas cakram kedalam setiap konsentrasi larutan uji dan kontrol positif serta negatif, lalu kertas cakram diletakkan diatas media MHA yang telah ditanam 0,1ml bakteri uji 0,5 Mc Farland. Langkah selanjutnya media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

pengamatan dilakukan dengan mengamati zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram dari masing-masing konsentrasi larutan uji, lalu diukur diameter dari zona bening tersebut (Mapila, 2012).

Ekstrak etanol biji sirsak (*annona muricata l.*) memiliki kandungan senyawa sebagai antibakteri, senyawa tersebut adalah alkaloid, saponin, tanin, steroid, flavonoid. Alkaloid berfungsi antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk dan menyebabkan kematian sel (Darsana, 2012). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu stabilitas membran sel dan menyebabkan keluarnya komponen penting sel bakteri yaitu protein dan asam nukleat (Juliantina, 2018).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dapat mengerutkan dinding sel atau membrane sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Akibat permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan terhambat atau bahkan mati (Darsana, 2012). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri mikrosom dan lisosom (Toy, T.S.S, 2015).

4.2.4 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Data yang diperoleh dari hasil penelitian terlebih dahulu diuji dengan uji normalitas untuk mengetahui data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Uji yang digunakan yaitu uji *Shapiro Wilk*. Apabila data tidak terdistribusi normal maka akan dilanjutkan dengan uji dengan uji *Kruskal Wallis H* dan juga uji *Mann Whitney U Test*.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* diketahui pada konsentrasi 10% diperoleh nilai p value sebesar $0,854 > 0,05$, pada konsentrasi 20% diperoleh nilai p value sebesar $0,570 > 0,05$, pada konsentrasi 30% diperoleh nilai p value sebesar $0,345 > 0,05$, dan kontrol positif

diperoleh nilai p value sebesar $0,204 > 0,05$, sehingga data tersebut berdistribusi normal. Disimpulkan bahwa data berdistribusi normal sehingga tidak dilakukan uji *Kruskal Wallis H* dan juga uji *Mann Whitney U Test*. Uji *Kruskal Wallis H* dan juga uji *Mann Whitney U Test* umumnya digunakan oleh peneliti sebagai alternatif dari uji anova ketika salah satu atau seluruh sebaran data tidak berdistribusi normal. Sehingga peneliti lanjut pada uji deskriptif.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui hasil uji *descriptives* data bakteri *Staphylococcus haemolyticus* di dapatkan pada konsentrasi 10% diperoleh nilai mean sebesar 1.649, nilai minimum sebesar 6.38, nilai maximum sebesar 2.785 dan standar deviasi sebesar 7.47. Pada konsentrasi 20% diperoleh nilai mean sebesar 3.673, nilai minimum sebesar 3.99, nilai maximum sebesar 8.935 dan standar deviasi sebesar 3.370. Pada konsentrasi 30% diperoleh nilai mean sebesar 5.741, nilai minimum sebesar 2.585, nilai maximum sebesar 9.755 dan standar deviasi sebesar 3.178. Pada kontrol positif diperoleh nilai mean sebesar 4.880, nilai minimum sebesar 7.02, nilai maximum sebesar 9.115 dan standar deviasi sebesar 3.977.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui perbandingan kontrol positif dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% menggunakan uji *paired samples t test* dimana korelasi antara kontrol positif dengan konsentrasi 20% memiliki korelasi yang kuat sebesar 0.757 atau 75.7%, diikuti dengan konsentrasi 10% sebesar 0.502 atau 50.2% dan korelasi yang lemah pada konsentrasi 30% sebesar 0.29 atau 29%

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 5.1.1 Ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus haemolyticus* pada konsentrasi 10%, 20% dan 30%.
- 5.1.2 Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*) dengan konsentrasi 10% (2.798 mm), 20% (4.392 mm) dan 30% (5.741 mm), rata-rata kontrol positif sebesar 7,465 dengan standar deviasi 2,49, termasuk kategori sedang.

5.2 Saran

Saran dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :


- 5.2.1 Perlu melakukan skrining fitokimia secara kuantitatif untuk mengetahui kuantitas senyawa aktif yang terkandung dalam biji sirsak (*Annona muricata L.*)
- 5.2.2 Perlu dilakukan pengujian kadar bunuh minimal (KBM) dan kadar hambat minimum (KHM) guna mengetahui kemampuan ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata L.*) dalam membunuh bakteri *Staphylococcus haemolyticus*

DAFTAR PUSTAKA

- Addina. 2014. Evaluasi Kadar Bakteri di Udara dengan Menggunakan Media Plate Count Agar (PCA) Berdasarkan Tinggi Secara Vertikal di Departemen Bedah Mulut RSG MP FKG USU dengan Metode Total Plate Count (TPC). *Skripsi*. Jurusan : Fakultas Kedokteran Gigi. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Anthonisen IL, Sunde M, Steinum TM, et al. 2002. Organization of the antiseptic resistance gene *qacA* and Tn552-related beta-lactamase genes in multidrugresistant *Staphylococcus haemolyticus* strains of animal and human origins. *Antimicrob Agents Chemother*. P. 46 (11):3606–3612.
- Atmojo, A. T. 2016. *Media Mueller Hinton Agar*. Diakses dari <https://medlab.id/media-mueller-hinton-agar/>. Diakses pada 15 Oktober 2022.
- Czekaj T, Ciszewski M, Szewczyk EM. 2015. *Staphylococcus haemolyticus* - an emerging threat in the twilight of the antibiotics age. *Microbiology*. P. 161(11):2061–2068.
- Damayanti, N. W. E., Abadi, M. F., dan Bintari, N. W. D. 2020. Perbedaan Jumlah Bakteri uji Pada Wanita Lanjut Usia Berdasarkan Kultur Mikrobiologi Menggunakan Teknik Cawan Tuang Dan Cawan Sebar. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*. Hal. 8(1), 1–4.
- Erviani, A. E., Arif, A. R., & Nisa, N. F. 2019. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Cacing Laut *Eunice sicilensis*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. Hal. 10(1).
- Fauzi, H. 2013. Sterilisasi dan Macam-macamnya. *Lembaga Sumber Daya Informasi*. Bogor : IPB
- Fifendy, Mades. *Mikrobiologi*. Kencana, 2017
- Katrin, D., Idiawati, N., dan Sitorus, B. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea gracieae* Vidal) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Hal. 4(1), 7–12.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. *Mari Bersama Atasi Resistensi Anti mikroba (AMR)*. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kristiani, M. . K. U. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Tanaman Suruhan (*Peperomia pellucida* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dan *Bacillus cereus* Secara In-Vitro Serta Kaitanya Dengan Pembelajaran Biologi SMA Kelas X. *Skripsi*. Yogyakarta Fakultas : Pendidikan Biologi. USD.
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. 2020. Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*. Hal. 10(1):7.
- Mahmudah, F. L., & Atun, S. 2017. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol

- temukunci (*Boesenbergia pandurata*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Penelitian Saintek*. Hal. 22(1) : 59-66.
- Maradona, D., 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zybethinus L*), Daun Lengkek, (*Dimocarpus longan Lour*), dan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Skripsi. Jurusan: Fakultas Kedokteran. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Mazzoli, S. 2010. Biofilms in chronic bacterial prostatitis (NIH-II) and in prostatic calcifications. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* P. 59 : 337–344.
- Mulyadi, M., Wuryanti, W., dan Sarjono, P. R. 2017. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. Hal. 20 (3) : 130–135
- Munira, M., Rodisa, F., dan Nasir, M. 2020. Uji antibakteri kombinasi ekstrak daun Biduri (*Calotropis gigantea L.*) dan daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*). *Jurnal SAGO Gizi dan Kesehatan*. Hal. 1(2) : 165-171
- Oktaviani, M. A., & Notobroto, H. B. 2014. Perbandingan Tingkat Konsistensi Normalitas Distribusi Metode Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors, Shapiro-Wilk, dan Skewness-Kurtosis. *Jurnal Biometrika Dan Kependudukan*. Hal. 3(2) : 127–135.
- Rossi CC, Santos-Gandelman JF, Barros EM. 2016. *Staphylococcus haemolyticus* as a potential producer of biosurfactants with antimicrobial, anti-adhesive and synergistic properties. *Lett Appl Microbiol.* P. 63 (3):215–221.
- Soesetyaningsih, E., dan Azizah, A. 2020. Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan. *Berkala Sainstek*, 8(3). Hal. 75-79.
- Sugiyono. 2012. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Talaro, K. P. Microbe-Human Interactions. *Foundations in Microbiology*. Dubuque, Iowa: McGraw-Hill Higher International Education, 384-387.
- Winastri, N. L. A. P., Muliastri, H., dan Hidayati, E. 2020. Aktivitas Antibakteri Air Perasan dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis corniculata L.*) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Berita Biologi*. Hal. 19(2) : 223-230

LAMPIRAN 1

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA**
Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

Samarinda, 28 April 2025

Nomor : 28S/STIKDS-Far/IV/2025
Lampiran : -
Perihal : Surat Izin Melaksanakan Penelitian



Yth. Kepala Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda (STIKSAM)

Berkenaan dengan penyusunan Skripsi Mahasiswa Program Studi S-1 Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda Tahun Akademik 2024/2025, yaitu:

Nama : Marcelino Edo Ba Beang
NIM : 181148201041
Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Sirsak (*Annona Muricata L.*) Terhadap Pertumbuhan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Haemolyticus*
Pembimbing : 1. apt. Muh. Taufiqurrahman, M. Farm
2. Risny Oklyan, M. Farm

Dengan ini kami mengajukan permohonan untuk dapat melaksanakan penelitian di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda (STIKSAM). Untuk Menggunakan Alat Rotary Evaporator di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda (STIKSAM)

Demikian permohonan ini kami sampaikan, atas perhatian dan bantuannya kami ucapkan terima kasih.


Ketua Program Studi

apt. Raymon Simanullang, M.Pharm
NIK. 0924.A4.18

LAMPIRAN 2

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA**
Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

Samarinda, 27 Maret 2025

Nomor : 27S/STIKDS-Far/III/2025
Perihal : Surat Izin Melaksanakan Penelitian

Dengan Hormat,

Yang bertandatangan di bawah ini, Wakil Ketua I dan Ketua Program Studi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda, menyatakan bahwa mahasiswa/I,

Nama : Marcelino Edo Ba Beang
NIM : 181148201041
Program Studi/Institusi : Farmasi / STIKES Dirgahayu Samarinda
Judul Penelitian : AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus haemolyticus*
Tempat Penelitian : Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda
Waktu Penelitian : April 2025 – Juni 2025

Telah memenuhi kaidah akademik dan diizinkan untuk melaksanakan penelitian skripsi.

Wakil Ketua I

Ns. Endang Pratiwi, M.Kep, Ph.D.NS
NIK. 0778.A4.08

Ketua Program Studi

Apt. Raymon Simanullang, M.Pharm
NIK. 0924.A4.18

LAMPIRAN 3



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN FAKULTAS KEHUTANAN DAN
LINGKUNGAN TROPIS
LABORATORIUM EKOLOGI DAN KONSERVASI BIODIVERSITAS HUTAN TROPIS
Alamat: kampus Unmul Gunung Kelua, Jl. Panajam Gd. B11 L1.1 Samarinda 75123
Telp./Fax (0541) 7273726, Email: lab.ekobio@fahutan.unmul.ac.id

Samarinda, 11 Juni 2025

Nomor : 100/UN17.4.08/LL/2025
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk/Ibu/Sdr(i). Marcelino Edo Ba (181148201041)

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

di-

Tempat

Dengan Hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Phyllum : Streptophyta
Class : Equisetopsida
Order : Magnoliales
Family : Annonaceae
Species : *Annona muricata* L.
Synonyms : *Annona bonplandiana* Kunth, *Annona ceareaensis* Barb.Rodr., *Annona muricata* var. *borinquensis* Morales, *Annona muricata* f. *mirabilis* R.E.Fr.
Common name : Sirsak
Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Tembusan:
Arsip

Prof. Dr. Ir. Paulus Matius, M.Sc.
NIP.195504111984031001

LAMPIRAN 4

HASIL PERHITUNGAN RENDEMAN

$$\begin{aligned} \text{Rendeman} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \quad 100\% \\ \text{Rendeman} &= \frac{26,23 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \quad 100\% = 13,11\% \end{aligned}$$

PERHITUNGAN PENGULANGAN

Perhitungan menggunakan persamaan

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

Keterangan :

t = Jumlah perlakuan

r = Jumlah pengulangan n= jumlah total sampel

Pada penelitian ini jumlah perlakuan yaitu 5, maka perhitungan adalah sebagai berikut :

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(5 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$4(r - 1) \geq 15$$

$$4r - 4 > 15$$




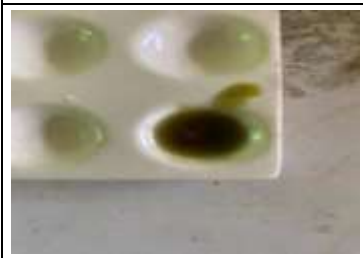


$$r = \frac{4+15}{4} = \frac{19}{4} = 4,75 = 5 \text{ ulangan}$$

LAMPIRAN 5

PERHITUNGAN DIAMETER ZONA HAMBAT BAKTERI *Staphylococcus haemolyticus*






PENGULANGAN 1	PENGULANGAN 2	PENGULANGAN 3	PENGULANGAN 4	PENGULANGAN 5
Positif (+) : DV = 12,53 mm DC = 11,17 mm DH = 6 mm L = $6,53+5,17/2 = 9,115$	Positif (+) : DV = 11,17 mm DC = 9,7 mm DH = 6 mm L = $5,17+3,7/2 = 7,02$	Positif (+) : DV = 10,71 mm DC = 8,27 mm DH = 6 mm L = $4,71+2,27/2 = 5,845$	Positif (+) : DV = 11,69 mm DC = 9,3 mm DH = 6 mm L = $5,69+3,3/2 = 7,34$	Positif (+) : DV = 11,79 mm DC = 10,43 mm DH = 6 mm L = $5,79+4,43/2 = 8,005$
10% DV = 7,51 mm DC = 6,55 mm DH = 6 mm L = $1,51+0,55/2 = 1,785$	10% DV = 7,03 mm DC = 6,71 mm DH = 6 mm L = $1,03+0,71/2 = 1,385$	10% DV = 7,21 mm DC = 6,89 mm DH = 6 mm L = $1,21+0,89/2 = 1,655$	10% DV = 8,27 mm DC = 7,03 mm DH = 6 mm L = $2,27+1,03/2 = 2,785$	10% DV = 10,72 mm DC = 9,32 mm DH = 6 mm L = $4,72+3,32/2 = 6,38$
20% DV = 12,2 mm DC = 11,47 mm DH = 6 mm L = $6,2+5,47/2 = 8,935$	20% DV = 9,44 mm DC = 7,10 mm DH = 6 mm L = $3,44+1,1/2 = 3,99$	20% DV = 7,34 mm DC = 6,13 mm DH = 6 mm L = $1,34+0,13/2 = 1,405$	20% DV = 8,16 mm DC = 7,39 mm DH = 6 mm L = $2,16+1,39/2 = 2,855$	20% DV = 10,23 mm DC = 7,09 mm DH = 6 mm L = $4,23+1,09/2 = 4,775$
30% DV = 13,4 mm DC = 10,71 mm DH = 6 mm L = $7,4+4,71/2 = 9,755$	30% DV = 12,13 mm DC = 10,63 mm DH = 6 mm L = $6,13+4,63/2 = 8,445$	30% DV = 8,72 mm DC = 7,31 mm DH = 6 mm L = $2,72+1,31/2 = 3,375$	30% DV = 9,49 mm DC = 8,11 mm DH = 6 mm L = $3,49+2,11/2 = 4,545$	30% DV = 8,17 mm DC = 6,83 mm DH = 6 mm L = $2,17+0,83/2 = 2,585$
Negatif (-) : -	Negatif (-) : -	Negatif (-) : -	Negatif (-) : -	Negatif (-) : -

LAMPIRAN 6
SKRINING FITOKIMIA

Gambar	Uji	Hasil
	Alkaloid Pereaksi Mayer	Hasil positif (+) terdapat endapan putih
	Alkaloid Pereaksi Wagner	Hasil positif (+) terdapat endapan coklat
	Alkaloid Pereaksi Dragendrof	Hasil positif (+) terdapat endapan merah bata atau jingga
	Uji Tanin Pereaksi FeCl3	Hasil positif (+) terjadi perubahan warna hijau sampai hitam
	Uji Steroid Pereaksi Liberman Burchard	Hasil positif (+) terbentuk warna biru
	Uji Flavanoid Pereaksi (serbuk magnesium + HCl pekat)	Hasil positif (+) terbentuk warna kuning

LAMPIRAN 7

PERLAKUAN

Gambar	Perlakuan
	Perlakuan 1
	Perlakuan 2
	Perlakuan 3
	Perlakuan 4
	Perlakuan 5

LAMPIRAN 8
PENGAMATAN

Gambar	Keterangan
	<p style="text-align: center;">Hasil penguapan</p>
	<p style="text-align: center;">Penyaringan hasil maserasi</p>
	<p style="text-align: center;">Penguapan menggunakan water bath</p>
	<p style="text-align: center;">Maserasi simplisia</p>
	<p style="text-align: center;">Bahan baku simplisia</p>

LAMPIRAN 9

HASIL UJI STATISTIK BAKTERI *Staphylococcus haemolyticus*

A. Uji Shapiro Wilk

Explore

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Konsentrasi 10%	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
Konsentrasi 20%	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
Konsentrasi 30%	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
Positif (+)	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%

Descriptives

		Statistic	Std. Error
Konsentrasi 10%	Mean	1649.6000	346.47101
	95% Confidence Lower Bound	687.6423	
	Interval for Mean Upper Bound	2611.5577	
	5% Trimmed Mean	1642.7222	
	Median	1655.0000	
	Variance	600210.800	
	Std. Deviation	774.73273	
	Minimum	638.00	
	Maximum	2785.00	
	Range	2147.00	
	Interquartile Range	1273.50	
	Skewness	.370	.913
	Kurtosis	1.418	2.000
	Mean	3673.8000	1507.23370
Konsentrasi 20%	95% Confidence Lower Bound	-510.9516	
	Interval for Mean Upper Bound	7858.5516	
	5% Trimmed Mean	3563.4444	
	Median	2855.0000	
	Variance	11358767.200	
	Std. Deviation	3370.27702	
	Minimum	399.00	
	Maximum	8935.00	
	Range	8536.00	
	Interquartile Range	5953.00	
	Skewness	1.084	.913
	Kurtosis	.813	2.000
	Mean	5741.0000	1421.48725
	Konsentrasi 30%	95% Confidence Lower Bound	1794.3187
Interval for Mean Upper Bound		9687.6813	
5% Trimmed Mean		5693.3333	
Median		4545.0000	
Variance		10103130.000	
Std. Deviation		3178.54212	

	Minimum	2585.00	
	Maximum	9755.00	
	Range	7170.00	
	Interquartile Range	6120.00	
	Skewness	.494	.913
	Kurtosis	-2.542	2.000
	Mean	4880.2000	1778.72250
	95% Confidence Lower Bound	-58.3254	
	Interval for Mean Upper Bound	9818.7254	
	5% Trimmed Mean	4877.0556	
	Median	5845.0000	
	Variance	15819268.700	
Positif (+)	Std. Deviation	3977.34443	
	Minimum	702.00	
	Maximum	9115.00	
	Range	8413.00	
	Interquartile Range	7842.00	
	Skewness	-.244	.913
	Kurtosis	-2.915	2.000

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Konsentrasi 10%	.231	5	.200*	.967	5	.854
Konsentrasi 20%	.196	5	.200*	.926	5	.570
Konsentrasi 30%	.247	5	.200*	.888	5	.345
Positif (+)	.251	5	.200*	.853	5	.204

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

B. Uji Deskriptif

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Konsentrasi 10%	5	638.00	2785.00	1649.6000	774.73273
Konsentrasi 20%	5	399.00	8935.00	3673.8000	3370.27702
Konsentrasi 30%	5	2585.00	9755.00	5741.0000	3178.54212
Positif (+)	5	702.00	9115.00	4880.2000	3977.34443
Valid N (listwise)	5				

C. Perbandingan kontrol positif dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%

Paired Samples T-Test

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 Positif & Konsentrasi10	5	.502	.389

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 Positif & Konsentrasi20	5	.757	.138

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 Positif & Konsentrasi30	5	.029	.963

Lampiran 10

Perhitungan Konsentrasi

$$\begin{aligned} 10 \% &= \frac{0,5 \text{ gram}}{5 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 10 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 20 \% &= \frac{1 \text{ gram}}{5 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 20 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 30 \% &= \frac{1,5 \text{ gram}}{5 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 30 \% \end{aligned}$$