

**EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa* L)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

KARYA TULIS ILMIAH



**ANDITA FITRIANI
131310041**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA
JOMBANG
2016**

**EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa L*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

Karya Tulis Ilmiah
Diajukan Dalam Rangka Memenuhi Persyaratan Menyelesaikan Studi Pada
Program Diploma III Analis Kesehatan

**ANDITA FITRIANI
131310041**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA
JOMBANG
2016**

LEMBAR PERSETUJUAN KARYA TULIS ILMIAH

Judul proposal : Efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*)
terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*
Nama Mahasiswa : Andita Fitriani
Nomor Pokok : 131310041
Program Studi : DIII Analis Kesehatan

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Erni Setiyorini, S.KM., MM
Pembimbing Utama

Farach Khanifah M.Si
Pembimbing Anggota

Mengetahui,

Ketua STIKes ICME

Ketua Program Studi

H. Bambang Tutuko, S.Kep., Ns., S.H., M.H
Ketua STIKes ICME

Erni Setiyorini, S.KM., MM
Ketua Program Studi

PENGESAHAN PENGUJI

EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa L*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

Disusun oleh
ANDITA FITRIANI

Telah dipertahankan di depan dewan enguji
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat
Jombang, 28 Juli 2016
Komisi Penguji,

Penguji Utama:

Dr. H. M. Zainul Arifin, Drs., M.Kes : _____

Penguji Anggota:

Erni Setiyorini, S.KM., M.M : _____

Farach Khanifah M.Si : _____

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andita Fitriani
NIM : 131310041
Tempat, tanggal lahir : Ponorogo, 04 Maret 1995
Institusi : STIKes ICME Jombang

Menyatakan bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SRIKAYA (*Annona Squamosa L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*” adalah bukan Karya Tulis Ilmiah milik orang lain baik sebagian maupun keseluruhan, kecuali dalam bentuk kutipan yang telah disebutkan sumbernya.

Demikia surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan apabila pernyataan ini tidak benar, saya bersedia mendapatkan sanksi.

Jombang, 28 Juli 2016
Yang menyatakan

Andita Fitriani
131310041

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Ponorogo, 04 Maret 1995 dari pasangan ibu Yatmi dan bapak Nyadi Prayitno. Penulis merupakan putri pertama dari 2 bersaudara.

Tahun 2007 penulis lulus dari SD Negeri 1 Slahung, tahun 2010 penulis lulus dari SMP Negeri 1 Slahung, tahun 2013 penulis lulus dari SMA Negeri 1 Slahung Ponorogo. Pada tahun 2013 lulus seleksi masuk STIKes “Insan Cendekia Medika” Jombang melalui jalur PMDK. Penulis memilih Program Studi DIII Analisis Kesehatan dari lima pilihan program studi yang ada di STIKes “Insan Cendekia Medika” Jombang.

Demikian riwayat hidup ini dibuat dengan sebenarnya.

Jombang, 28 Juli 2016

Andita Fitriani
131310041

MOTTO

Hiduplah dengan Luar Biasa

**Kegagalan bukanlah awal dari kesuksesan, Tetapi belajarlh dari kegagalan
maka kamu satu langkah menuju sukses**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya Tulis ini dipersembahkan untuk orang tua yang tak pernah berhenti mendukung, mendoakan dikala terjatuh dan di atas.

Untuk Semua dosen yang tak pernah lelah membimbing tanpa mengeluh dan tanpa meminta imbalan.

Untuk kakakku tersayang yang selalu mendakan dan mendukungku.

Untuk sahabat-sahabatku yang selalu mengingatkan untuk terus semangat.

Dan yang terakhir untuk saya sendiri yang tak pernah kehilangan semangat dalam mengerjakan karya tulis ilmiah ini.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dapat diselesaikan tepat waktu. Karya Tulis Ilmiah ini diajukan dalam rangka memenuhi persyaratan menyelesaikan Program Studi III Analis Kesehatan.

Sehubungan dengan itu penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada H. Bambang Tutuko, S.Kep., Ns., S.H., M.H selaku Ketua STIKes ICME Jombang, Dr. H. M. Zainul arifin, Drs., M.Kes selaku penguji utama Karya Tulis Ilmiah, Erni Setiyorini S.KM., MM selaku Kaprodi DIII Analis Kesehatan sekaligus pembimbing utama Karya Tulis Ilmiah, Farach Khanifah M.Si selaku pembimbing anggota Karya Tulis Ilmiah, Soffa Marwa Lesmana Amd.AK selaku pembimbing laboratorium, orang tua, serta teman-teman yang membantu baik secara langsung maupun tidak langsung memberikan saran dan dorongan sehingga terselesainya Karya Tulis Ilmiah ini.

Sebagai manusia biasa, saya menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini banyak kekurangannya dan masih jauh dari kata sempurna, namun demikian besar harapan saya kiranya tulisan sederhana ini dapat bermanfaat dalam menambah pengetahuan tentang manfaat efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) sebagai antimikroba alami.

Akhir kata penulis mengucapkan banyak terima kasih, kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak sangat kami harapkan untuk penyempurnaan penyusunan Karya Tulis Ilmiah berikutnya.

Jombang, 28 Juli 2016

Andita Fitriani

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
SURAT PERNYATAAN	v
RIWAYAT HIDUP	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	ix
HALAMAN PERSEMBAHAN	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1	La
tar Belakang.....	1
1.2	Ru
musan Masalah.....	4
1.3	Tu
juan Penelitian	4
1.4	M
manfaat Penelitian	5

1.5	B
AB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuhan Srikaya (<i>Annona Squamosa L.</i>)	6
2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.3 Penggunaan Daun Srikaya Sebagai Antibiotik	17
2.4 Antibiotik Gentamisin	18
2.5 Ekstraksi	19
2.6 Pengujian Aktifitas Antibakteri.....	22
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Kerangka Konsep	26
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	27
3.3. Hipotesa	28
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	29
4.2 Desain Penelitian.....	29
4.3 Bahan Uji	30
4.4 Istrumen dan Cara Penelitian.....	30
4.5 Teknik Pengolahan Data dan Analisis Data	37
4.6 Definisi Operasional Variabel.....	39
4.7 Kerangka Kerja (<i>Frame Work</i>)	41
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian.....	42
5.2 Hasil Penelitian	43
5.3 Perhitungan Jumlah Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	45
5.4 Analisa Data	48
5.5 Pembahasan.....	53
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	

6.1 Kesimpulan..... 58

6.2 Saran..... 58

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi efektifitas suatu zat antibakteri	23
Tabel 4.1 Definisi operasional efektifitas ekstrak daun sikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara <i>in vitro</i>	40
Tabel 5.1 Distribusi Frekuensi Karakteristik Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Tabel 5.2 Distribusi Frekuensi Karakteristik Ekstrak Daun Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>)	44
Tabel 5.3 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	45
Tabel 5.4 Nilai Probabilitas (p) Uji Normalitas	49
Tabel 5.5 Nilai Probabilitas (p) Uji Homogenitas	50
Tabel 5.6 Hasil Uji <i>One Way</i> ANOVA.....	50
Tabel 5.7 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> LSD	52

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 3.1 Kerangka konseptual tentang efektivitas antimikroba ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* 26
- Gambar 4.1 Kerangka kerja penelitian tentang efektivitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* 41
- Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* 47
- Gambar 5.2 Grafik perbandingan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kontrol negatif..... 48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Prosedur Penelitian

Lampiran 2 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni

Lampiran 3 Pengamatan Secara Mikroskopis Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus*

Lampiran 4 Perhitungan Jumlah Koloni

Lampiran 5 Data Statistik *One Way ANOVA SPSS 16,0*

Lampiran 6 Dokumentasi

Lampiran 7 Lembar Konsultasi I

Lampiran 8 Lembar konsultasi II

Lampiran 9 Jadwal Penelitian

ABSTRAK

EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

Oleh

Andita Fitriani

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi. Pemberian antibiotik merupakan upaya pengendalian terhadap infeksi yang dapat menyebabkan resisten. Bakteri *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap antibiotik ampisilin, amoksisilin-asam klavulanat, amoksisilin, penisilin G, sulbenisilin, kloramfenikol dan siprofloksasin sehingga penanganan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* relatif sulit. Daun Srikaya diketahui mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tannin yang memiliki efek antimikroba. Dalam penelitian ini ditentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dengan menggunakan metode dilusi padat.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen analitik dengan *post test only control group design*. Sampel dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan stok kultur milik Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Variabel independen dalam penelitian ini adalah ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dengan konsentrasi 3%, 6%, 12% dan 24%. Variabel dependen dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Data dianalisis dengan uji one way ANOVA dilanjutkan uji *Post Hoc* LSD dengan nilai probabilitas $(p) < 0,05$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang berbanding terbalik dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun srikaya mulai dari konsentrasi 3% hingga 24%.

Kesimpulan pada penelitian ini yaitu ekstrak daun srikaya mempunyai efek antimikroba terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan KHM terletak pada konsentrasi dua kali lipat dari konsentrasi 24%.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, ekstrak daun srikaya, antimikroba, Kadar Hambat Minimum (KHM).

ABSTRACT

THE EFFECTIVENESS OF *Annona squamosa* L. LEAF AGAINST GROWTH OF *Staphylococcus aureus* USING N VITRO METHOD

By

Andita Fitriani

Staphylococcus aureus is a bacteria that most commonly cause infections. Giving antibiotics is an effort to control the infection that can cause resistant. *Staphylococcus aureus* resistant to the antibiotic ampicillin, amoxicillin-clavulanic acid, amoxicillin, penicillin G, sulbenisilin, chloramphenicol and ciprofloxacin so that the handling of it's infection is relatively difficult. *Annona squamosa* leaf are known to contain flavonoids, saponins and tannins which have antimicrobial effects. In this study determined minimum inhibitory concentration (MIC) using solid dilution method.

This research is an analytic experiment with post test only control group design. Bacteria that used in this study is *Staphylococcus aureus* which is the stock culture belongs to the Balai besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. The independent variables in this study is an extract of *Annona squamosa* leaf with a concentration of 3%, 6%, 12% and 24%. The dependent variable in this study is the *Staphylococcus aureus*. Data were analyzed by one way ANOVA followed by LSD Post Hoc test with (p) <0.05. The results showed that there is a decrease in the number of colonies of *Staphylococcus aureus* that is inversely proportional to the increase in the concentration of *Annona squamosa* leaf extract.

The conclusions on this research that *Annona squamosa* leaf extract has an antimicrobial effect on the growth of *Staphylococcus aureus* with MIC located at concentrations doubling of the concentration of 24%.

Keyword: *Staphylococcus aureus*, *Annona squamosa* leaf extract, Antimicrobial agent, Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Penyakit Infeksi dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Infeksi disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, riketsia, jamur dan protozoa. Golongan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi ialah bakteri *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia dan paling sering. Bakteri ini dapat menyebabkan sepsis pada luka bedah, abses payudara pada ibu-ibu, mata lengket dan lesi-lesi kulit pada bayi. Infeksi *Staphylococcus aureus* pada manusia dapat ditularkan secara langsung melalui selaput mukosa yang bertemu dengan kulit (Gibson, 1996 dikutip dari Mulyati, 2009).

Upaya pengendalian penyakit, khususnya infeksi yang disebabkan oleh bakteri selama ini dilakukan dengan pemberian antibiotik. Antibiotik selain membunuh mikroorganisme atau menghentikan reproduksi bakteri juga membantu sistem pertahanan alami tubuh untuk mengeliminasi bakteri tersebut (Robert, 2011 dikutip dari Fernandez, 2013). Namun, dalam penggunaannya antibiotik seringkali dapat menyebabkan resistensi. Resistensi merupakan kemampuan bakteri dalam menetralkan dan melemahkan daya kerja antibiotik. Masalah resistensi selain berdampak pada morbiditas dan mortalitas, juga memberi dampak negatif terhadap

ekonomi dan sosial yang sangat tinggi (Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 2406/MENKES/PER/XII/2011).

Resistensi obat terhadap mikroorganisme patogen telah sering dilaporkan, salah satunya yaitu resistensi terhadap antibiotik. Selain itu tingkat resistensi obat lebih tinggi di negara berkembang seperti Indonesia dibandingkan negara-negara maju. Penelitian terhadap pola kepekaan bakteri khususnya bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik di wilayah Jakarta Timur menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* resisten terhadap antibiotik ampisilin, amoksisilin-asam klavulanat, amoksisilin, penisilin G, sulbenisilin, kloramfenikol dan siprofloksasin (Refnadita *et al*, 2004).

Penanganan dan terapi yang tepat dalam infeksi bakteri harus diperhatikan agar tidak menimbulkan dampak yang lain bagi penderita. Pemanfaatan bahan dari alam dapat digunakan sebagai alternatif dalam penanganan infeksi bakteri karena selain dapat digunakan sebagai pengganti antibiotik, bahan dari alam bersifat ramah terhadap lingkungan, mudah diperoleh dan harganya ekonomis serta yang terpenting tidak menimbulkan efek resisten terhadap bakteri.

Banyak penelitian yang telah mengungkapkan tanaman disekitar kita bisa dimanfaatkan sebagai obat. Di Indonesia terdapat berbagai macam tanaman yang belum dimanfaatkan secara maksimal. Banyak tanaman berkhasiat yang memiliki banyak kegunaan salah satunya adalah srikaya. Khalayak umum mengenal kegunaan tanaman srikaya hanya untuk dimakan buahnya saja. Padahal bagian dari tanaman srikaya (*Annona squamosa L.*) yang bermanfaat tidak hanya buahnya saja tetapi juga daunnya.

Daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat digunakan sebagai antioksidan, antidiabetik, hepatoprotektif, aktivitas antitumor dan lain

sebagainya. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada srikaya (*Annona squamosa L.*) ialah glikosida, alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, karbohidrat, protein, senyawa fenolik, pitosterol dan asam amino. Penelitian pengujian profil fitokimia menunjukkan pada daun srikaya (*Annona squamosa L.*) memiliki kandungan senyawa seperti saponin, flavonoid dan tannin (Purwita, 2013 dikutip dari Barve, 2011). Senyawa flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein sehingga mengganggu proses metabolisme bakteri (Poeloengan, 2010). Senyawa saponin adalah suatu glikosida alamiah yang dapat mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma sehingga sel mikroba menjadi lisis (Nio, 1989). Sedangkan senyawa tannin merupakan astrigen polifenol yang dapat mempresipitasi protein bakteri sehingga terjadi inaktivasi enzim yang diproduksi bakteri dan menginaktivasi protein transport dinding sel bakteri sehingga merusak dinding sel bakteri (Harvey dan John, 2004; Duke, 2009).

Senyawa yang terkandung dalam daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian penggunaan perasan daun srikaya (*Annona squamosa L.*) yang telah dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa perasan daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata diameter daya hambat yang terbentuk sebesar 21,27 mm (Yunikawati *et al.*, 2013). Penelitian penggunaan ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* telah dibuktikan bahwa ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat menghambat pertumbuhan jamur (Purwita *et al.*, 2013). Zat-zat kimia yang terkandung dalam daun srikaya (*Annona squamosa L.*) bekerja menghambat pertumbuhan mikroorganisme

dengan mengganggu proses metabolisme mikroorganisme. Hal ini menunjukkan bahwa daun srikaya (*Annona squamosa L.*) berpotensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian efektifitas antibiotik ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah efektifitas antibiotik ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Pada konsentrasi berapa nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dari ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektifitas antibiotik ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui efektifitas antibiotik ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
2. Mengetahui konsentrasi efektif antibiotik ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga mampu digunakan sebagai alternatif antibiotik alami.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Penelitian ini dapat menambah ilmu pengetahuan terhadap perkembangan ilmu mikrobiologi khususnya di bidang bakteriologi.

1.4.2 Manfaat praktis

1.4.2.1 Masyarakat

Penelitian ini mampu menjadi wacana bagi masyarakat untuk pemanfaatan daun srikaya (*Annona squamosa L.*) sebagai obat antibiotik alami yang lebih murah dan mudah didapat.

1.4.2.2 Institusi dan tenaga kesehatan

Dapat menjadi acuan bagi tenaga kesehatan dan institusi untuk melakukan sosialisasi atau penyuluhan tentang infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan cara pengobatannya menggunakan alternatif antibiotik alami.

1.4.2.3 Peneliti selanjutnya

Dapat menjadi acuan bagi peneliti selanjutnya untuk melakukan pengembangan metode mengenai uji sensitifitas daya antibiotik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Srikaya (*Annona squamosa L.*)

2.1.1 Sistematika Tumbuhan

Klasifikasi tanaman srikaya (*Annona squamosa L.*) dalam sistematika tumbuhan sebagai berikut; Divisio: *Spermatophyta*, Subdivision: *Angiospermae*, Kelas: *Dicotyledoneae*, Ordo: *Ranales*, Familia: *Annonaceae*, Genus: *Annona*, Spesies: *Annona squamosa Linn* (Cronquist, 1981; Backer, *et al.*, 1965)

2.1.2 Nama Daerah dan Nama Asing

Tanaman srikaya mempunyai bermacam-macam sebutan. Masyarakat Aceh menyebut srikaya adalah delima bintang atau serba bintang, orang Melayu menyebutnya delima srikaya dan seraikaya bagi masyarakat di daerah Lampung. Sarikaya adalah sebutan untuk tanaman srikaya di daerah Sunda dan orang Jawa menyebutnya serkaya atau surikaya. Masyarakat Madura Gorontalo dan Buru menyebutnya sarkaya, serekaya dan sirikaya atau bagi masyarakat Timor, sirkaya bagi masyarakat Bali, srikaya kebo bagi masyarakat Sumbawa, nagametawata bagi orang Sumba dan garoso bagi masyarakat Bima. Masyarakat Sulawesi Utara, Ternate dan Tidore menyebutnya atis, sedangkan masyarakat Halmahera menyebutnya atisi atau hirikaya (Achmad *et al.*, 2007).

2.1.3 Morfologi

Merupakan perdu sampai pohon, berumah satu, berkelamin ganda dengan tinggi 2-7 m. batang gilik, percabangan simpodial, ujung rebah dan kulit berwarna coklat muda. Daun tunggal, berseling, berbentuk elips

memanjang sampai bentuk lanset, ujung tumpul sampai meruncing pendek, bagian tepi rata dan berwarna hijau mengkilat. Bunga tunggal dan berada dalam berkas 1-2 berhadapan atau di samping daun. Daun kelopak berbentuk segitiga, waktu kuncup bersambung seperti katup dan berukuran kecil. Mahkota berbentuk segitiga, bagian terluar berdaging tebal dan berwarna putih kekuningan dengan pangkal yang berongga berubah menjadi ungu, adapun daun mahkota yang terdalam berukuran sangat kecil. Dasar bunga berbentuk tugu (tinggi). Benang sari berjumlah banyak dan berwarna putih, kepala sari melebar dan menutup ruang sari. Buah majemuk agregat, berbentuk bulat membengkok di ujung, permukaan berduri, berlilin, bagian buah dengan ujung melengkung pada waktu matang sedikit atau banyak melepaskan diri satu dengan yang lain dan daging buah berwarna putih keabu-abuan. Biji terdapat dalam satu buah agregat, berjumlah banyak dan berwarna hitam mengkilat (Redaksi AgroMedia, 2008).

2.1.4 Khasiat Tumbuhan Srikaya

1. Sebagai Antimalaria

Ada tiga aporfin alkaloid yang diisolasi dari kulit buah srikaya (*Annona squamosa L.*) yang dapat dimanfaatkan sebagai antimalaria yaitu N-Nitrosoxylophine, Roemerolidine dan Duguevalline. Aktifitas antiplasmodial dari senyawa N-Nitrosoxylophine menunjukkan hasil yang cukup sensitif terhadap kedua CQ D10. Senyawa Roemerolidine dan Duguevalline menunjukkan antiplasmodia yang moderat tanpa perlakuan sitotoksinitas (Kulkarni, 2011 dikutip dari Saha, 2011).

2. Sebagai Antidiabetik

Penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa buah srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat dimanfaatkan sebagai antihiperqlikemik.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan tikus jantan ras wintar albino. Diabetes diinduksi dengan menggunakan Streptozotocin. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian oral ekstrak buah srikaya (*Annona squamosa L.*) pada tikus selama 30 hari secara signifikan dapat menurunkan kadar glukosa darah, urea, asam urat dan keratinin. Tetapi meningkatkan aktifitas insulin, C peptida, albumin, rasio albumin/globulin dan mengembalikan semua enzim penanda ke tingkat yang mendekati kontrol terendah (Kaleem, 2008 dikutip dari Saha, 2011).

3. Sebagai Antitumor

Biji srikaya (*Annona squamosa L.*) yang diekstraksi menggunakan pelarut air dan organik dapat dimanfaatkan sebagai antitumor. Penelitian ini dilakukan pada sel tumor tikus *histolytica* AK-5. Pada penelitian ini menunjukkan secara signifikan apoptosis kematian sel tumor dengan meningkatkan kegiatan Caspase-3, menurunkan regulasi apoptosis gen anti BCl-2 dan BCl. Meningkatkan regenerasi intraseluler ROS yang berkorelasi dengan baik dengan menurunkan intraseluler GSH. Selain itu, fragmentasi DNA dan pewarnaan annexin-V menunjukkan bahwa ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat menginduksi apoptosis pada sel tumor melalui stress oksidatif (Khar Ashok, 2004 dikutip dari Saha, 2011).

4. Sebagai Antibisul

Senyawa sintetik yaitu 1-(4- β -D-glucopyranosyloxyphenyl)-2-(β -D-glucopyranosyloxy)-ethane diisolasi secara alami pertama kalinya dari ranting tumbuhan srikaya (*Annona squamosa L.*). Senyawa-senyawa yang diisolasi dari ranting tanaman srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat digunakan sebagai skrining untuk aktifitas antibisul. Contoh yang dapat

digunakan sebagai skrining yaitu mengendalikan zat-zat dingin seperti ligase pilorus, aspirin, alkohol yang diinduksi dari ulkus lambung dan histamin yang diinduksi dari ulkus duodenum. Hasilnya dibandingkan dengan standar omeprazole. Hasil skrining menunjukkan adanya aktifitas antisekresi secara *in vivo* melalui penurunan, keasaman total dan pepsin di ligase pilorus, dikonfirmasi oleh penghambatan secara *in vitro* oleh H(+) K(+)-ATPase yang sesuai dengan penurunan tingkat plasma gastrin (Yadav dan Singh, 2011 dikutip dari Saha, 2011).

5. Sebagai Hepatoprotektif

Ekstrak air dan alkohol dari daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat dimanfaatkan sebagai skrining aktifitas hepatotoksisitas. Penelitian ini dilakukan pada tikus wistar. Induksi hepatotoksisitas eksperimental diinduksi dengan menggunakan Isoniazid dan rifampisin, standar *Silymarin* digunakan untuk refensi. Hasil menunjukkan penurunan yang signifikan pada bilirubin total bersama dengan peningkatan yang signifikan pada tingkat protein total dan penurunan kadar ALP, AST, ALT dan γ -GT pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok hepatotoksik. Dalam studi histopatologi kelompok hepatotoksik menunjukkan hepatosit nekrosis dan peradangan di wilayah sentrilobular dengan triaditis portal. Pada sekelompok hewan diobati dengan ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) menunjukkan meminimalnya peradangan dengan triaditis portal moderat dan arsitektur lobular normal. Kesimpulan yang didapat adalah ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) tidak dapat menyembuhkan secara total kerusakan hati yang disebabkan oleh isoniazid dan rifampicin, tetapi bisa membatasi efek obat dalam hati (Saleem, 2008 dikutip dari Saha, 2011).

6. Sebagai Antibakteri dan Penyembuhan Luka

Dalam studi tentang daun srikaya (*Annona squamosa L.*) yang diekstraksi dengan metode sokletasi dengan pelarut yang berbeda seperti petroleum eter pelarut eter, kloroform, alkohol dan air kloroform dalam urutan kepolaran. Kelima ekstrak dilakukan pemeriksaan skrining antibakteri dengan menggunakan metode *cup plate*. Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dengan petroleum eter, alkohol dan air kloroform menunjukkan zona maksimum penghambatan pertumbuhan bakteri. Kemudian ekstrak ini diambil untuk penyembuhan luka. Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dengan petroleum eter yang digunakan menunjukkan hasil yang signifikan. Semua hasilnya signifikan untuk parameter yang berbeda dalam kegiatan penyembuhan luka bila dibandingkan dengan kontrol positif (Shenoy *et al*, 2009 dikutip dari Saha, 2011).

7. Sebagai Antihelmintik

Ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa L.*) dengan pelarut air dan metanol yang digunakan dalam penelitian ini. Ekstraksi dilakukan dengan menghancurkan biji srikaya (*Annona squamosa L.*) sehingga menjadi bubuk kemudian direndam dengan air dan metanol selama 7 hari. Hasil ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa L.*) tersebut menunjukkan hasil yang signifikan terhadap cacing *Haemonchus contortus*, nematoda yang umum yang ada dalam perut domba dan kambing di Northeastern Brasil. Senyawa diisolasi dan struktur ditentukan sebagai trihidroksi C37 yang berdekatan dengan asetogenin bistetrahidrofuran berdasarkan analisis spektrofotometri. Senyawa yang dilaporkan tersebut diisolasi dari ekstrak etil asetat dan dapat

menghambat penetasan telur *Haemonchus contortus* (Souza *et al*, 2008 dikutip dari Saha, 2011).

8. Sebagai Antirematik, Antiinflamasi dan Sebagai Analgesik

Penelitian ini menggunakan ekstrak gabungan dari srikaya (*Annona squamosa L.*) dan jintan hitam yang dievaluasi dan divalidasi dalam berbagai hewan uji. *Arthritis* diinduksi oleh injeksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) di metatarsal tikus ras *Sprague Dawley*. Tingkat peradangan dievaluasi dengan tingkat kebengkakan kaki belakang dan berat badan tikus, Estimasi AST, ALT dan TP didukung oleh histopatologi dari sendi lutut. Hasil gabungan dari ekstrak adalah penurunan yang signifikan pada volume kaki, peningkatan berat badan dan penurunan kadar ALT, AST dan TP. Untuk aktifitas antirematik histopatologi menunjukkan bahwa adanya penurunan yang signifikan dalam infiltrasi neutrofil, pembentukan pannus dan tulang dari hewan tersebut yang diberi perlakuan oleh ekstrak srikaya (*Annona squamosa L.*). Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak tanaman srikaya mengandung senyawa yang berfungsi sebagai analgesik dan aktifitas anti inflamasi dengan dosis yang sebanding dengan kontrol dari obat yaitu petidin sulfat dan indometasin (Sanjiv, 2011 dikutip dari Saha, 2011).

9. Sebagai Antimikroba

Aktifitas antimikroba dievaluasi menggunakan empat pelarut. Metode difusi agar terpilih untuk memeriksa aktifitas antibakteri. Dua gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) dan dua gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*) ialah bakteri yang dipilih untuk skrining. Hasil skrining menunjukkan bahwa zona tertinggi penghambatan yang diamati dengan pelarut metanol

terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (MIC: 130µg / ml) diikuti oleh pelarut petroleum eter terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (MIC: 165µg/ml) dan dengan menggunakan pelarut metanol pada *Escherichia coli* (MIC: 180µg/ml) (Jayshree *et al*, 2008 dikutip dari Saha, 2011).

10. Sebagai Antioksidan

Untuk menguji aktifitas antioksidan digunakan ekstrak yang dibuat dari daun srikaya (*Annona squamosa L.*). Konstituen yang terisolasi dan menjadi sasaran ialah IR, LC-MS dan senyawa yang dikonfirmasi ialah senyawa jenis flavon berdasarkan data spectral. Secara *in vitro* aktifitas antioksidan yang diisolasi dari daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dievaluasi oleh aktifitas radikal bebas dari konsentrasi yang berbeda (10µg, 50µg dan 100µg) menggunakan metode 1,1-dinefil-2-picrylhydrazil (DPPH). Hasil uji tersebut kemudian dibandingkan dengan antioksidan sintetik *Butylated Hidroksil Anisol* (BHA). Senyawa-senyawa yang terisolasi tersebut memperlihatkan aktifitas antioksidan yang bebas secara signifikan (Chandrashekar *et al*, 2011 dikutip dari Saha, 2011).

11. Anti HIV

Hasil positif ditunjukkan oleh ekstrak srikaya (*Annona squamosa L.*) ketika dievaluasi untuk skrining anti HIV. Dalam penelitian tersebut terdapat senyawa baru yang diisolasi dan telah diberi nama. Struktur dari senyawa baru tersebut telah ditetapkan oleh analisis spektral dan terbukti secara kimia. Diantara 14 senyawa yang terisolasi dalam penelitian tersebut senyawa yang diberi nama asam 16,17-dihydroxy-entkauran-19-oki menunjukkan aktifitas yang signifikan terhadap replikasi HIV dalam sel limfosit H9 dengan nilai EC50 0,8 µg/ml (Saleem, 2008 dikutip dari Saha, 2011).

12. Sebagai Aktifitas Sitotoksik

Dua senyawa baru telah diisolasi dan dievaluasi dalam penelitian ini. Ekstrak dari biji srikaya (*Annona squamosa L.*) digunakan untuk mengisolasi senyawa baru tersebut. Penelitian ini dilakukan terhadap HCT, karsinoma pada paru (A-549), karsinoma payudara manusia (MCF-7) dan adenokarsinoma pada prostat manusia (PC-3) dengan Adriamycin sebagai control positif dengan menggunakan metode MTT.

2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sistem klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut; Domain: *Bacteria*, Kingdom: *Eubacteria*, Divisi: *Firmicutes*, Kelas: *Cocci*, Ordo: *Bacillales*, Famili: *Staphylococcaceae*, Genus: *Staphylococcus*, Spesies: *Staphylococcus aureus* (Brooks et al., 2005).

2.2.2 Pertumbuhan dan Perbenihan

Staphylococcus aureus tumbuh dengan baik dalam pembenihan kaldu biakan pada suhu 37°C. Batas suhu rendah untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ialah 15°C dan batas suhu tertinggi untuk pertumbuhan ialah 40°C, sedangkan bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 35°C. Pertumbuhan yang baik dan khas ialah pada suasana aerob, bakteri ini juga bersifat fakultatif anaerob dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk pertumbuhan bakteri, yaitu dengan pH 7,4. Pada lempeng agar, koloni bakteri berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak. Warna khas yang terbentuk ialah kuning keemasan atau intensitas warnanya dapat bervariasi. Pada lempeng agar darah umumnya koloni lebih besar dan terdapat zona hemolisis yang mengelilingi koloni. Untuk

mengisolasi bakteri ini dari tinja, digunakan lempeng agar yang mengandung NaCl 10% untuk menghambat bakteri lain dan manitol untuk mengetahui patogenitasnya (Warsa, 1993).

Koloni yang masih muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, chloroform dan benzol. Pigmen ini termasuk dalam golongan lipokrom dan akan tetap dalam koloni, tidak meresap ke dalam perbenihan, tetapi larut dalam eksudat jaringan sehingga nanah berwarna kuning keemasan yang merupakan petunjuk adanya infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Dalam suasana anaerob pada lempeng agar pada suhu 37°C pembentukan pigmen kurang subur. Tetapi bila koloni tersebut dipindahkan pada agar biasa atau perbenihan *Loeffler* dieramkan pada suhu kamar, maka pembentukan pigmennya sangat baik (Warsa, 1993).

2.2.3 Enzim dan Toksin

Staphylococcus aureus dapat menginfeksi melalui kemampuannya untuk berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai substansi ini merupakan enzim sebagian yang lain merupakan toksin, meskipun dapat berfungsi sebagai enzim. Banyak dari toksin tersebut yang berada di bawah kontrol genetik plasmid, sebagian toksin kemungkinan di bawah kontrol kromosom dan ekstrakromosomal dan sebagian yang lain mekanisme kontrol genetik tidak terdefiniskan dengan baik.

a. Katalase

Staphylococcus aureus menghasilkan katalase, yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Jawetz *et al*, 2013). Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktifitas katalase menjadi pembeda genus

Staphylococcus dari *Streptococcus* (Ryan *et al.*, 1994; Brooks *et al.*, 1995 dikutip dari Kusuma, 2009).

b. Koagulase

Enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktifitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositasnya (Warsa, 1993).

c. Hemolisin

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis di sekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *Staphylococcus aureus* terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin dan delta hemolisin. Alfa hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemolisis di sekitar koloni *Staphylococcus aureus* pada medium agar darah. Toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia. Beta hemolisin adalah toksin yang terutama dihasilkan *Staphylococcus aureus* yang diisolasi hewan yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisiskan sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba (Warsa, 1993).

d. Leukosidin

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi perannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena *Staphylococcus aureus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis (Jawetz *et al.*, 2013).

e. Toksin eksfoliatif

Toksin ini merupakan suatu protein ekstraseluler yang tahan terhadap panas tetapi tidak tahan asam. Toksin ini dianggap sebagai penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSS), antara lain meliputi dermatitis eksfoliativa pada neonates (*Ritter's Disease*), impetigo bulosa, *Staphylococcal scarlatiniform rash* dan toksin epidermal nekrolisis pada orang dewasa (Warsa, 1993).

f. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* diisolasi dari pasien dengan toksik sindrom syok toksik yang menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok ruam kulit dan gangguan multisistem organ dalam tubuh (Jawetz *et al.*, 2013).

g. Enterotoksin

Enterotoksin merupakan enzim yang tahan terhadap panas dan tahan terhadap pepsin dan tripsin. Enterotoksin menyebabkan keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein. Gejala umum yang timbul secara mendadak, yaitu mual, muntah-muntah dan diare. Namun terkadang disertai kolaps (Warsa, 1993).

2.3.2 Pengobatan

Pengobatan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* melalui pemberian antibiotik, yang disertai dengan tindakan bedah, baik berupa pengeringan abses maupun nekrotomi. Untuk kasus yang ringan dapat diberikan penisilin. Pada infeksi yang berat atau diduga resisten terhadap penisilin, sebagai alternatif dapat diberikan metisilin atau derivat penisilin lain. Pada penderita yang alergi terhadap penisilin, dapat diberikan sefalosporin, eritromisin, linkomisin atau klindamisin. Pada pasien

septikemia, selain antibiotik yang diberikan dalam jangka panjang, juga dapat diberikan antitoksin *Staphylococcus* (Warsa, 1993).

2.3. Penggunaan Daun Srikaya Sebagai Antibiotik

Tumbuhan srikaya memang mengandung banyak manfaat. Bukan hanya buahnya saja yang dapat dimakan, tetapi mulai dari kulit buah srikaya, batang tumbuhan srikaya khususnya daun srikaya dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba. Khalayak umum memanfaatkan buah srikaya untuk dimakan, padahal bagian dari pohon srikaya yaitu daunnya mengandung senyawa-senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba.

Daun srikaya mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tannin. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein sehingga mengganggu proses metabolisme (Poeloengan, 2010 dikutip dari Yunikawati *et al.*, 2013). Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme bakteri. Mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain flavonoid dapat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Manoi dan Balitro, 2009 dikutip dari Yunikawati *et al.*, 2013).

Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Saponin dapat digunakan antara lain untuk membuat minuman beralkohol, dalam industri pakaian dan kosmetik, dalam obat-obatan, serta sebagai obat tradisional. Saponin berfungsi sebagai antibakteri dan antimikroba. Hal ini didasarkan pada sifat sitotoksik dari saponin dan kemampuannya dalam mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma sehingga sel mikroba menjadi lisis (Nio, 1989 dikutip dari Budiyanti, 2010).

Tannin merupakan senyawa metabolit sekunder yang sering ditemukan pada tanaman. Tannin merupakan astrigen polifenol, memiliki rasa pahit, dapat mengikat dan mengendapkan protein serta larut dalam air (terutama air panas). Secara fisika, tannin memiliki sifat antara lain akan membentuk koloid jika dilarutkan kedalam air, memiliki rasa asam dan sepat, jika dicampur dengan alkaloid dan gelatin akan terjadi endapan, tidak dapat mengkristal dan dapat mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut sehingga tidak dipengaruhi oleh enzim proteolitik. Umumnya tannin digunakan untuk pengobatan penyakit kulit dan sebagai antibakteri. Tannin mempunyai mekanisme mempresipitasi protein bakteri sehingga terjadi inaktivasi enzim yang diproduksi bakteri dan menginaktivasi protein transport dinding sel bakteri sehingga merusak dinding sel bakteri (Harvey dan John, 2004; Duke, 2009).

2.4 Antibiotik Gentamisin

Gentamisin merupakan antibiotik jenis aminoglikosida yang efektif untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif yang sensitif antara lain *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* dan lain-lain. Dalam keadaan tertentu gentamisin digunakan pula terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedapat mungkin gentamisin sistemik hanya diterapkan pada infeksi berat saja (Davies, 1998 dikutip dari Wirahmi *et al.*, 2011).

Mekanisme kerja dari gentamisin adalah mengganggu sintesis pada ribosom bakteri. Aminoglikosida berikatan dengan 30S ribosomal subunit, yang mengakibatkan:

- Kesalahan pembacaan kodon mRNA, yang menyebabkan kesalahan dalam urutan pembentukan asam amino
- Disrupsi dari *polysome* yang menyebabkan penurunan efisiensi protein sintesis *polysome*
- Penghambatan translokasi tRNA antara ribosom A dan P *binding sites* (Bosco, 2010 dikutip dari Yadnya, 2014).

Efek samping yang sering terjadi pada pemberian gentamisin secara sistemik adalah sebagai berikut:

- Kerusakan *apparatus cochlea* dan *vestibular* yang mengakibatkan gangguan keseimbangan tubuh, tinitus dan kehilangan pendengaran
- *Nephrotoxic effect* yaitu kerusakan ginjal yang diakibatkan oleh efek toksik dari gentamisin
- Reaksi alergi seperti muntah, nausea, dan *skin rash* (Cavanaugh, 2009 dikutip dari Yadnya, 2014).

Untuk meminimalkan efek samping dan meminimalkan potensi gentamisin sebagai antibiotik maka diperkenalkan cara pemberian dengan injeksi lokal pada kompartemen jaringan. Kelebihan dari pemberian antibiotik secara lokal adalah efek toksisitas sistemik yang lebih rendah sehingga efek samping sistemik seperti ototoksik dan nefrotoksik dapat diturunkan secara signifikan. Gentamisin merupakan pilihan antibiotik yang utama karena sifatnya yang stabil pada lingkungan luar hingga dapat tahan sampai suhu 100°C (Yarboro, 2007 dikutip dari Yadnya, 2014).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke

dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Diketuainya senyawa aktif yang dikandung oleh simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti rimpang dan daun mudah diserap oleh pelarut, karena itu pada proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai halus. Simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu dan kulit akar susah diserap oleh pelarut, karena itu perlu diserbuk sampai halus (Depkes, 2000).

Metode-metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dapat dibagi menjadi dua cara, yaitu cara dingin dan cara panas (Depkes, 2000):

a. Cara dingin

1) Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukkan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan pertama yang merata dan seterusnya (Depkes, 2000). Keuntungan dari metode maserasi yaitu prosedur dan peralatannya sederhana (Agoes, 2007).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*Exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh

ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes, 2000). Keuntungan dari metode perkolasi ini adalah proses penarikan zat berkhasiat dari tumbuhan lebih sempurna, sedangkan kerugiannya adalah membutuhkan waktu yang lama dan peralatan yang digunakan relatif mahal (Agoes, 2007).

b. Cara panas

1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses sempurna.

2) Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukkan secara kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4) Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup terukur 96-98°C) selama 15-20 menit.

5) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama, yaitu $\geq 30^{\circ}\text{C}$ dan temperatur sampai titik didih air.

Penelitian ini menggunakan metode maserasi karena penggunaan alat pada metode maserasi lebih sederhana. Kemudian dari segi ekonomi relatif murah dan prosesnya relatif hemat penyari dan tanpa pemanasan. Pada proses ekstraksi ini digunakan pelarut etanol 96% untuk mendapatkan kandungan kimia seperti flavonoid, saponin dan tannin yang terkandung dalam daun srikaya. Penggunaan Etanol sebagai bahan ekstraksi dengan alasan karena pelarut etanol dapat melarutkan kandungan kimia dari daun srikaya, baik yang bersifat polar maupun non polar, sehingga komponen kimia yang terdapat pada daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat diekstraksi secara sempurna, selain itu untuk menghindari pertumbuhan mikroba pada ekstrak yang diperoleh dan juga karena etanol merupakan pelarut yang aman digunakan untuk kosmetika (Ristek-MTIC AWARD, 2007 dikutip dari Sentana, 2010).

2.6 Pengujian Aktifitas Antibakteri

Pengujian aktifitas antibakteri dilakukan untuk mendapatkan respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Salah satu manfaat dari pengujian ini adalah didapatkan sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Penentuan setiap kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik adalah dengan menentukan kadar terkecil antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut:

a. Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktifitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu pada masa inkubasi (Brooks, 2007 dikutip dari Prayoga, 2013). Metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

1) Cara Cakram (*Paper Disc*)

Cara ini ialah cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam antibiotik. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi bakteri uji, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu yang telah ditentukan, sesuai dengan kondisi optimum dari bakteri uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pelczar, 1988 dikutip dari Prayoga, 2013). Pengklasifikasian efektifitas suatu zat antibakteri sebagai berikut:

Tabel 2.1 Klasifikasi efektifitas suatu zat antibakteri (Greenwood, 1995)

Diameter zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

Metode cakram kertas (*paper disc*) memiliki kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan pre-inkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram kertas biasanya sulit untuk diinterpretasikan. Selain itu, metode cakram disk tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan yang bersifat anaerob obligat (Bonang, 1992 dikutip dari Prayoga, 2013).

2) Cara Parit (*Ditch*)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian di inkubasi dalam waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk bakteri uji. Hasil pengamatan akan diperoleh ada atau tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Prayoga, 2013 dikutip dari Bonang, 1992).

3) Cara Sumuran (*hole/cup*)

Cara sumuran dilakukan dengan menginokulasikan bakteri uji pada lempeng agar dengan dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antibakteri. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai, dilakukan pengamatan dengan melihat ada tidaknya zona hambatan di sekitar lubang (Bonang, 1992 dikutip dari Prayoga, 2013).

b. Metode Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, kemudian diinokulasikan dengan bakteri uji. Hasil yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya bakteri dalam media. Aktifitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba

uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji (Pratiwi, 2008). Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu:

a. Dilusi Cair (*Broth Dilution Test/Serial Dilution*)

Metode ini digunakan untuk mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration* atau kadar hambat minimum, KHM), dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration* atau Kadar Bunuh Minimum, KBM). Cara yang digunakan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terendah akan terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media padat tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media padat yang tetap terlihat jernih ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

b. Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

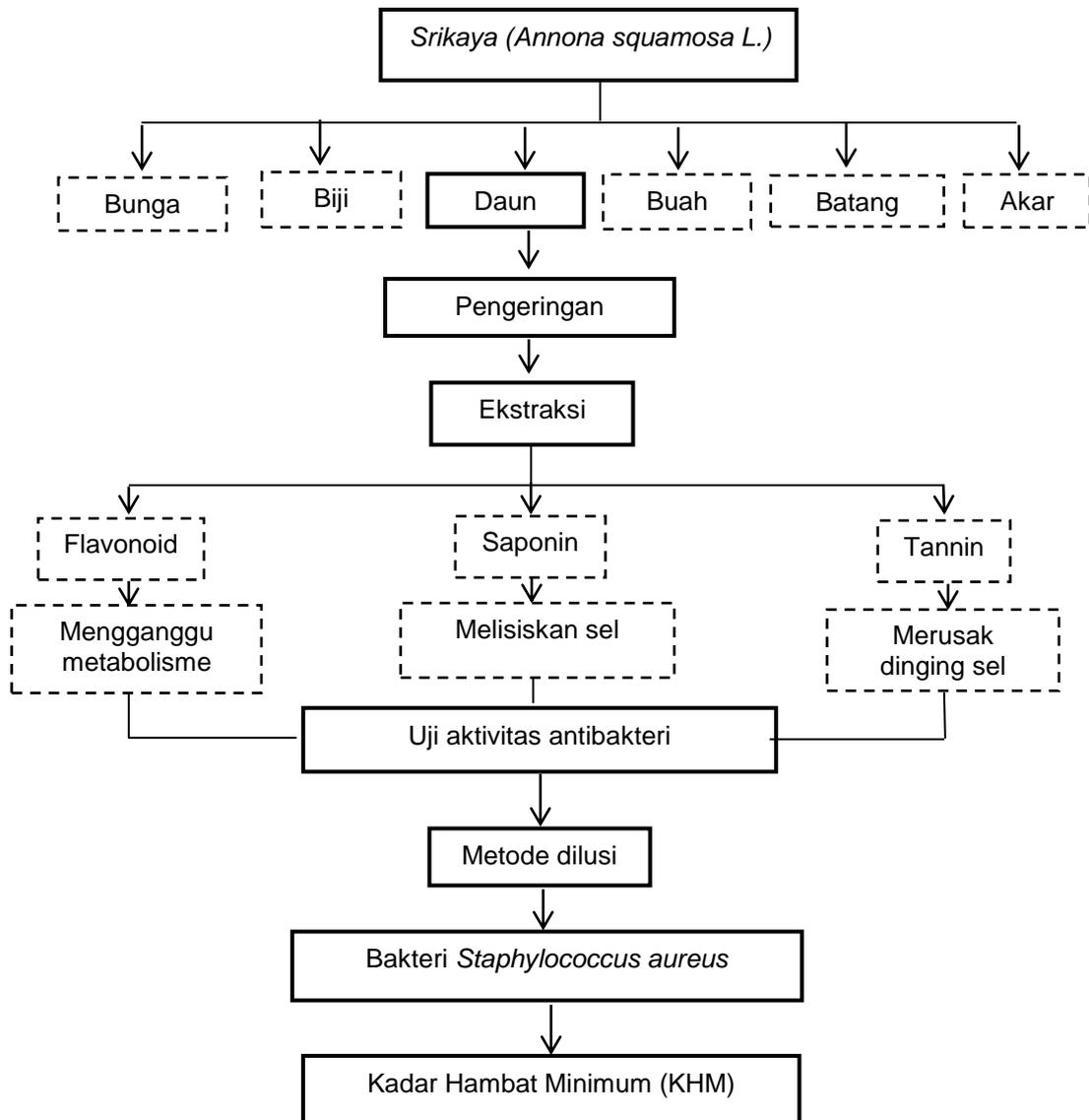
Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

BAB III

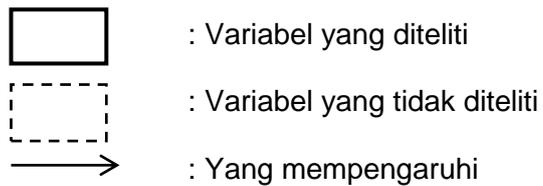
KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konsep

Kerangka konseptual adalah hubungan antara konsep-konsep yang ingin diamati atau diukur melalui penelitian-penelitian yang dilakukan (Notoadmojo, 2005). Kerangka konseptual dalam penelitian ini dapat dilihat sebagai berikut:



Keterangan:



Gambar 3.1 Kerangka konseptual tentang efektifitas antimikroba ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Tumbuhan srikaya (*Annona squamosa L.*) merupakan tumbuhan yang memiliki bagian bunga, biji, daun, buah, batang dan akar. Pada bagian daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terlebih dahulu dilakukan pengeringan kemudian diekstrak dan didapatkan ekstrak daun srikaya yang mengandung senyawa antimikroba yaitu flavonoid, saponin dan tannin. Senyawa flavonoid mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein sehingga mengganggu proses metabolisme bakteri. Senyawa saponin dapat mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma sehingga sel mikroba menjadi lisis. Sedangkan senyawa tannin dapat mempresipitasi protein bakteri sehingga merusak dinding sel bakteri. Pengujian efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dilakukan dengan menggunakan metode dilusi untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) antimikroba dari ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

3.3. Hipotesa

Hipotesa dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. H_0 : Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*
- b. H_1 : Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

BAB IV

METODE PENELITIAN

Metode penelitian sebagai suatu cara untuk memperoleh kebenaran ilmu pengetahuan atau pemecahan suatu masalah (Notoatminajo, 2010). Pada bab ini akan diuraikan hal-hal sebagai berikut:

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

4.1.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan (mulai dari penyusunan proposal sampai dengan penyusunan laporan akhir) pada bulan Februari sampai dengan bulan Juni 2016.

4.1.2 Tempat Penelitian

Tempat pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi. Program Studi D-III Analis Kesehatan STIKes ICME Jombang, Jalan Kemuning No.57 A Candimulyo, Kabupaten Jombang, Provinsi Jawa Timur.

4.2 Desain Penelitian

Desain penelitian merupakan sesuatu yang sangat penting dalam penelitian. Desain penelitian digunakan sebagai petunjuk dalam merencanakan dan melaksanakan penelitian untuk mencapai suatu tujuan atau menjawab pertanyaan penelitian (Nursalam, 2011). Penelitian yang digunakan adalah eksperimental murni dengan *post test control group design*.

4.3 Bahan Uji

4.3.1 Bahan yang diuji

Pada penelitian ini bahan uji yang digunakan adalah ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) yang diekstraksi menggunakan metode maserasi yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes ICME Jombang.

4.3.2 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya.

4.5 Instrumen dan Cara Penelitian

4.5.1 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian adalah alat atau fasilitas yang akan digunakan oleh peneliti dalam mengumpulkan data agar pekerjaannya lebih mudah dan hasilnya mudah diolah (Saryono, 2011). Instrumen yang digunakan untuk efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah sebagai berikut:

A. Alat yang digunakan

1. *Autoclave*
2. Batang pengaduk
3. *Blue tip*
4. Cawan petri
5. *Centrifuge*
14. Kompor gas
15. Kuvet
16. Mikropipet 1000 μ L
17. *Mortal dan pastle*
18. Neraca analitik

- | | |
|---------------------------|-----------------------|
| 6. <i>Colony Counter</i> | 19. Ose |
| 7. Corong gelas | 20. Oven |
| 8. Erlenmeyer | 21. Pembakar spiritus |
| 9. Gelas beaker | 22. Rak tabung reaksi |
| 10. <i>Hot plate</i> | 23. Refrigerator |
| 11. Inkubator | 24. Spektrofotometer |
| 12. Kertas koran | 25. Tabung reaksi |
| 13. Kertas saring whatman | 26. Termometer |

B. Bahan yang digunakan:

1. Aluminium foil
2. Gentamisin injeksi 40 mg/ml (konsentrasi 4%)
3. Aquades steril
4. Daun srikaya (*Annona squamosa L.*)
5. Etanol 96%
6. Handscoon
7. Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya
8. Kapas
9. Kertas label
10. Masker
11. Media Agar Miring *Nutrient Agar*
12. Media padat *Muller Hilton Agar (MHA)*
13. NaCl 0,9% steril

4.5.2 Cara Penelitian

A. Membuat Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)

1. Membersihkan daun srikaya (*Annona squamosa L.*)

2. Memotong daun srikaya (*Annona squamosa L.*) sehingga menjadi potongan-potongan kecil
3. Mengeringkan selama kurang lebih 10 hari kemudian ditumbuk dan ditimbang berat kering
4. Melakukan maserasi pada serbuk daun srikaya dengan menggunakan pelarut etanol 96% (dengan perbandingan 1 bagian serbuk srikaya : 3 bagian etanol 96%) dalam wadah tertutup
5. Mengaduk dengan batang pengaduk
6. Mendinginkan selama 5 hari
7. Menyaring hasil maserasi dengan kertas saring dan corong gelas
8. Memasukkan filtrat ke dalam *beaker glass*
9. Melakukan penguapan di atas *hot plate* hingga volumenya berkurang dan agak mengental (<78°C)
10. Mengendapkan hasil ekstraksi dengan menggunakan *centrifuge*
11. Memasukkan ke *oven* hingga bentuknya kental menyerupai pasta
12. Menghitung nilai rendemen dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{W}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W: bobot ekstrak murni (gr)

W₀: bobot bahan yang diekstrak (gr)

C. Sterilisasi

1. Memasukkan *blue tip* ke dalam *beaker glass* yang berisi kapas, menutup dengan *aluminium foil* dan mensterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit

2. Mengisi Erlenmeyer dengan 500 ml aquadest, menutup mulut erlenmeyer dengan kapas, kemudian dibungkus dengan *aluminium foil* dan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit
3. Membungkus tabung reaksi, batang pengaduk, pinset dan cawan petri dengan *aluminium foil* atau dengan kertas koran kemudian mensterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit

D. Membuat Media Padat *Mueller Hilton Agar*

1. Menimbang *Muller Hilton Agar* (MHA) serbuk sebanyak 5,1 gram
2. Melarutkan dengan 150 ml aquades dalam *beaker glass*
3. Menghomogenkan campuran
4. Memanaskan di atas *hot plate* dan mengaduk hingga mendidih
5. Menuang ke dalam erlenmeyer
6. Menutup mulut erlenmeyer dengan kapas dan *aluminium foil*
7. Mensterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit
8. Membiarkan dingin dan memasukkan ke dalam refrigerator untuk disimpan

D. Pembuatan Suspensi Bakteri

1. Meremajakan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara menggoreskan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ose ke media agar miring *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
2. Mengambil 1 mata ose bakteri *Staphylococcus aureus* dari media *Nutrient Broth* lalu dikultur ke dalam 10 ml larutan NaCl kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam hingga didapatkan

kekeruhan setara dengan Mc Farland 0,5 yaitu kepadatan 1×10^8 bakteri/ml (Panagan, 2009 dikutip dari Yunikawati *et al*, 2013). Suspensi bakteri dengan konsentrasi bakteri 1×10^6 bakteri/ml, dapat dibuat melalui langkah-langkah sebagai berikut:

- a. Diambil 1 ml larutan dengan konsentrasi 1×10^8 bakteri/ml tersebut dan dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi ml NaCl. Konsentrasi bakteri menjadi 1×10^7 bakteri/ml.
- b. Dari konsentrasi 1×10^7 diambil 1 mata ose kemudian di masukkan ke dalam 1 ml NaCl. Konsentrasi menjadi 1×10^6 bakteri/ml.

E. Menguji Efektifitas Antimikroba Metode Dilusi Padat

1. Mencairkan media padat *Muler Hilton Agar* di atas hot plate.
2. Mempersiapkan 14 cawan petri dan memberi label pada masing-masing cawan petri.
3. Membuat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 1×10^6 bakteri/ml.
4. Menyiapkan larutan uji ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan konsentrasi 3%, 6%, 12%, dan 24% dengan cara:
 - a. Membuat 8 ml konsentrasi larutan uji ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) 30% dengan cara mengisi tabung reaksi dengan ekstrak kental daun srikaya (*Annona squamosa* L.) sebanyak 2,4 gram dan aquades steril sebanyak 8 ml. Selanjutnya mengencerkan konsentrasi 30% ini menjadi konsentrasi 3%, 6%, 12% dan 24%.
 - b. Konsentrasi 3% dengan mengencerkan 0,4 ml ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) 30% dan 3,6 ml aquades steril

- c. Konsentrasi 6% dengan mengencerkan 0,8 ml ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) 30% dan 3,2 ml aquades steril
 - d. Konsentrasi 12% dengan mengencerkan 1,2 ml ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) 30% dan 2,8 ml aquades steril
 - e. Konsentrasi 24% dengan mengencerkan 3,2 ml ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) 100% dan 0,8 ml aquades steril
 - f. Larutan kontrol positif menggunakan 1 ml gentamicin 40 mg/ml
 - g. Kontrol negatif hanya berisi media 9 ml *Muller Hilton Agar* (MHA) dan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* 1 ml
5. Memasukkan 1 ml masing-masing konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) dan larutan kontrol ke dalam cawan petri steril
 6. Menambahkan 8 ml media *Muller Hilton Agar* (MHA) cair yang masih hangat dengan suhu 40-50°C ke dalam masing-masing cawan petri tersebut
 7. Menambahkan 1 ml suspensi bakteri dengan konsentrasi 1×10^6 bakteri/ml
 8. Menghomogenkan semua campuran dengan cara menggoyangkan cawan petri
 9. Menginkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C
 10. Menghitung jumlah koloni bakteri dengan menggunakan *colony counter*
 11. Menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) dengan melihat konsentrasi ekstrak terendah yang tidak ditumbuhi bakteri pada cawan petri.

12. Melakukan pengulangan pada masing-masing kelompok perlakuan sebanyak 3 kali, hanya menggunakan 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif lalu menghitung rata-ratanya. Perhitungan jumlah ulangan pada kelompok perlakuan dihitung dengan menggunakan rumus estimasi pengulangan (Loekito, 1998):

$$p(n-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 21/6$$

$$n \geq 3,1 \text{ dibulatkan menjadi } 3$$

Jadi pada penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

keterangan:

n = jumlah pengulangan.

p = jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak daun srikaya + kontrol) tiap pengulangan.

1.5 Teknik Pengolahan Data dan Analisa Data

1.5.1 Teknik Pengolahan Data

Setelah data terkumpul, maka dilakukan pengolahan data melalui tahapan *Coding* dan *Tabulating*.

a. *Coding*

Adalah kegiatan mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan (Notoatmodjo, 2010). Pada penelitian ini, peneliti memberikan kode sebagai berikut:

1) Data Umum

A. Ekstrak Daun Srikaya

Ekstrak Daun Srikaya 3%	kode DS1
Ekstrak Daun Srikaya 6%	kode DS2
Ekstrak Daun Srikaya 12%	kode DS3
Ekstrak Daun Srikaya 24%	kode DS4
Kontrol Positif	kode PP (+)
Kontrol Negatif	kode NN (-)

B. Pengulangan Uji

Ulangan ke-1	kode U1
Ulangan ke-2	kode U2
Ulangan ke-3	kode U3

2) Data Khusus

Negatif	kode N
Positif	kode P

b. *Tabulating*

Tabulating (pentabulasian) meliputi pengelompokan data sesuai dengan tujuan penelitian kemudian dimasukkan ke dalam tabel-tabel yang telah ditentukan yang mana sesuai dengan tujuan penelitian atau yang diinginkan oleh peneliti (Notoatmodjo, 2010). Dalam penelitian ini data disajikan dalam bentuk tabel yang menggambarkan hasil uji efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

4.5.2 Analisa data

Prosedur analisis data merupakan proses memilih dari beberapa sumber maupun permasalahan yang sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Notoatmodjo, 2010).

1. Analisis *Univariate*

Analisis *univariate* bertujuan untuk menjelaskan dan mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian. Bentuk analisis *univariate* tergantung dari jenis datanya. Pada umumnya dalam analisis ini hanya menghasilkan distribusi frekuensi dan presentase dari tiap variabel (Notoatmodjo, 2010). Analisa *univariate* pada penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi efektifitas ekstrak daun Srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

2. Analisis *Bivariate*

Cara analisis data yang digunakan adalah analisis *bivariate* yang dilakukan terhadap dua variabel yang diduga berhubungan atau berkorelasi (Notoatmodjo, 2010). Analisa *bivariate* pada penelitian ini adalah untuk mencari hubungan antara variabel dependen dan independen, dimana adanya perbedaan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dari beberapa konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dianalisis menggunakan komputer program SPSS 16,0 for Windows dengan menggunakan uji statistik *One-way ANOVA (Analysis of Variance)* yang digunakan untuk menganalisa data.

Metode *One-way ANOVA* dapat digunakan jika data memenuhi syarat-syarat uji parametrik sebagai berikut :

1. Memiliki satu variabel tergantung (simbol X) yang datanya bergejala interval/rasio.
2. Satu variabel bebas (simbol A) datanya bergejala nominal/ordinal.
3. Hanya menguji satu variabel independen saja.

4.6 Definisi Operasional Variabel

4.6.1 Variabel

Variabel adalah sesuatu yang digunakan sebagai ciri, sifat atau ukuran yang dimiliki atau didapatkan oleh satuan penelitian tentang sesuatu konsep pengertian tertentu (Notoatmodjo, 2010). Variabel pada penelitian ini adalah efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah:

1. Variabel Independen

Variabel independen adalah suatu variabel yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel dependen (Hidayat, 2012). Variabel bebas pada penelitian ini adalah beberapa konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) bertingkat yang sudah ditentukan. Konsentrasi yang digunakan, yaitu: 3%, 6%, 12%, dan 24%.

2. Variabel Dependen

Variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat karena variabel independen (Hidayat, 2012). Variabel dependen dalam hal ini adalah isolat bakteri *Staphylococcus aureus*.

3. Variabel Penghubung/Perantara

Variabel yang menjadi penghubung antara variabel independen dan variabel dependen. Variabel penghubung dalam hal ini adalah zat flavonoid, saponin dan tannin.

4. Variabel Luar Tidak Terkendali

Umur tanaman srikaya (*Annona squamosa L.*) merupakan variabel luar yang tidak dapat dikendalikan karena daun srikaya yang digunakan bisa berasal dari satu atau beberapa tanaman srikaya, sedangkan tidak diketahui apakah tanaman-tanaman tersebut ditanam pada waktu yang bersamaan atau tidak.

4.6.2 Definisi Operasional Variabel

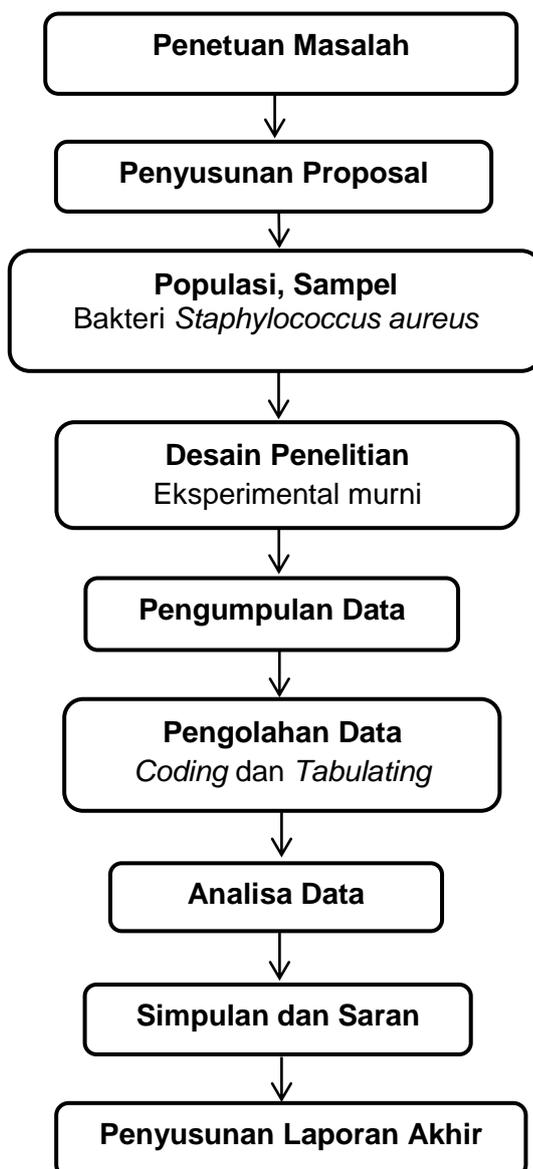
Definisi operasional variabel adalah uraian tentang batasan variabel yang dimaksud atau tentang apa yang diukur oleh variabel yang bersangkutan (Notoatmodjo 2010). Definisi operasional variabel penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut:

Tabel 4.1 Definisi operasional efektifitas ekstrak daun sikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*

Variabel	Definisi operasional	Parameter	Kategori	Skala Data	Alat Ukur
Variabel independen: Ekstrak daun srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.)	Sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi daun srikaya yang kemudian diencerkan dengan aquades steril	Konsentrasi ekstrak daun srikaya dalam %	3%, 6%, 12% dan 24%	Ordinal	Observasi Laboratoris
Variabel dependen: Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Jumlah bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> yang dihitung dengan metode perhitungan koloni setelah diinkubasi bersama dengan ekstrak yang diuji dalam media agar <i>Muller Hilton</i>	Jumlah koloni bakteri	a. Positif: jumlah bakteri yang dihitung < jumlah koloni pada kontrol negatif b. Negatif: jumlah koloni bakteri yang dihitung \geq jumlah koloni bakteri pada kontrol negatif	Rasio	Observasi Laboratoris

4.7 Kerangka Kerja (*Frame Work*)

Kerangka kerja merupakan langkah-langkah yang akan dilakukan dalam penelitian yang berbentuk kerangka atau alur penelitian, mulai dari desain hingga analisis datanya (Hidayat, 2012). Kerangka kerja penelitian tentang efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah sebagai berikut:



Gambar 4.1 Kerangka kerja penelitian tentang efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Insan Cendekia Medika Jombang (STIKes ICME Jombang). Terletak di Jl. Kemuning No.57 A Kecamatan Candimulyo, Kabupaten Jombang. Laboratorium Mikrobiologi merupakan salah satu laboratorium yang ada pada program studi DIII Analis Kesehatan STIKes ICME Jombang. Dimana laboratorium mikrobiologi digunakan untuk praktikum maupun penelitian yang terkait dalam bidang bakteriologi, parasit dan fungi. Berbagai peralatan yang terdapat pada laboratorium mikrobiologi antara lain; refrigerator, *autoclave*, inkubator, mikroskop binokuler, *hot plate*, neraca analitik, enkas, lemari untuk menyimpan reagen dan dilengkapi tempat untuk pengecatan bakteri. Di laboratorium ini juga dilengkapi dengan AC sehingga suhu di dalam laboratorium cukup stabil sebagai tempat penyimpanan bakteri dan reagen.

5.2 Hasil Penelitian

5.2.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Penelitian ini menggunakan sampel bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari *stock culture* milik Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Isolat bakteri diidentifikasi dengan pewarnaan Gram yang bertujuan untuk melihat bakteri yang bersifat gram positif atau negatif serta bentuknya. Pewarnaan Gram atau metode Gram untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yaitu Gram positif dan Gram

negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel bakteri, kemudian ditanam ulang di media NA. Hasil pewarnaan Gram dan pengamatan sel bakteri berbentuk bulat (kokus) yang bergerombol dan berwarna ungu (Gram positif). Secara makroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* membentuk koloni bulat, berdiameter 1 µm, elevasi cembung, mempunyai warna khas yaitu putih kekuningan dan konsistensinya lunak (jika ditanam pada media NA).

Tabel 5.1 Distribusi Frekuensi Karakteristik Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengamatan	Hasil
Makroskopis	
- Warna koloni	Putih kekuningan
- Tepi	Rata
- Elevasi	Cembung
- Permukaan	Halus
- Bentuk	Bulat
Mikroskopis	
- Warna	Ungu (Gram positif)
- Bentuk	Bulat (Kokus) bergerombol

5.2.2 Karakteristik Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)

Proses ekstraksi senyawa kimia yang terkandung dalam daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut organik yaitu etanol 96% yang didasarkan pada sifat selektifnya dan dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan. Selain keekonomisan etanol, pemilihan etanol juga dikarenakan kemampuannya dalam mengekstrak sebagian besar senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia, seperti alkaloida, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil seperti lemak, malam, tannin dan saponin hanya sedikit larut (Depkes RI, 1986). Penggunaan

metode maserasi didasarkan pada kepraktisannya dalam pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan.

Proses maserasi pada daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dilakukan selama 5 hari dan selama perendaman dilakukan pengadukan beberapa kali agar senyawa-senyawa yang terdapat pada simplisia dapat larut dengan baik. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan cara dipanaskan di atas *hot plate* dengan suhu $<78^{\circ}\text{C}$ yang merupakan titik didih dari etanol. Dipanaskan sampai didapatkan ekstrak yang kental.

Tabel 5.2 Distribusi Frekuensi Karakteristik Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)

Karakteristik Ekstrak	Hasil
Organoleptis	
• Bentuk	Ekstrak kental
• Warna	Hijau kehitaman
• Bau	Khas daun srikaya
• Rasa	Pahit
Rendemen	27,08%

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 4 macam konsentrasi perlakuan yang berbeda serta 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif. Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dengan konsentrasi 100% berwarna hijau kehitaman. Sebelumnya dilakukan pembuatan stok dengan konsentrasi 30% yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 3%, 6%, 12% dan 24%. Namun, pada konsentrasi yang digunakan (3%, 6%, 12% dan 24%) pengenceran yang dilakukan membuat ekstrak relatif lebih jernih.

5.3 Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengujian aktifitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode dilusi padat. Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan perlakuan dan media agar (MHA), kemudian diinokulasikan dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dilakukan sebagai pengujian pendahuluan untuk ekstrak uji terhadap bakteri, sehingga dapat menggambarkan kemampuan ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dalam hal menghambat pertumbuhan pada sampel bakteri. Pembuatan larutan konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dilarutkan dengan aquadest steril. Selanjutnya dilakukan pengamatan setelah inkubasi selama 24 jam.

Tabel 5.3 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Sampel	Pengulangan	Jumlah Koloni	Rata-rata	Hasil
1	DS1	U1	592	592	P
		U2	568		
		U3	616		
2	DS2	U1	352	336	P
		U2	336		
		U3	320		
3	DS3	U1	192	202	P
		U2	200		
		U3	216		
4	DS4	U1	152	162	P
		U2	160		
		U3	176		
5	PP (+)	U1	0	0	-
		U2	0		
		U3	0		
6	NN (-)	U1	1440	1441	-
		U2	1435		
		U3	1450		

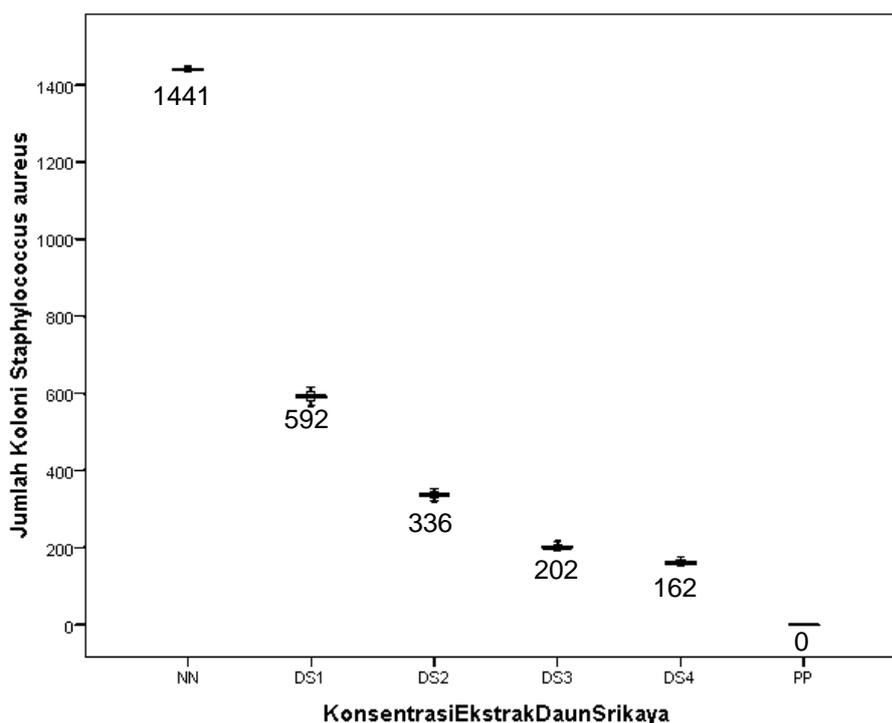
Keterangan:

- DS1` : Ekstrak daun srikaya konsentrasi 3%
- DS2 : Ekstrak daun srikaya konsentrasi 6%
- DS3 : Ekstrak daun srikaya konsentrasi 12%
- DS4 : Ekstrak daun srikaya konsentrasi 24%
- PP (+) : Kontrol positif (antibiotik gentamisin)
- NN (-) : Kontrol negatif (tanpa ekstrak)
- U1 : Ulangan ke-1
- U2 : Ulangan ke-2
- U3 : Ulangan ke-3
- P : Positif

Berdasarkan tabel di atas nampak bahwa pada masa inkubasi 24 jam, ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan dalam ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin dan tannin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil perhitungan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media MHA pada beberapa konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) menunjukkan hasil yang bervariasi pada tiap kelompok perlakuan (konsentrasi). Adanya perbedaan konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) memberikan efek yang berbeda sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus*. Pengaruh pemberian ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) mulai terlihat pada konsentrasi 3%, dimana jumlah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media MHA menjadi turun bila dibandingkan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol negatif (tanpa pemberian ekstrak). Pada konsentrasi 3% rata-rata jumlah koloni yang tumbuh pada media MHA sebanyak 592 koloni. Pada konsentrasi 6%, rata-rata jumlah koloni yang tumbuh menurun menjadi sebanyak 336 koloni. Untuk konsentrasi 12%, rata-rata jumlah koloni juga menurun menjadi sebanyak 202 koloni. Hal yang sama terjadi pada ekstrak dengan konsentrasi 24%, rata-rata

jumlah koloni menurun menjadi sebanyak 162 koloni. Kemudian sebagai perbandingan, kontrol positif yang merupakan antibiotik gentamisin setelah inkubasi 24 jam, menunjukkan tidak adanya koloni yang tumbuh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada kontrol negatif yang berisi media MHA dan suspensi bakteri (tanpa pemberian ekstrak) menunjukkan pertumbuhan koloni dengan rata-rata jumlah koloni sebanyak 1441 koloni.

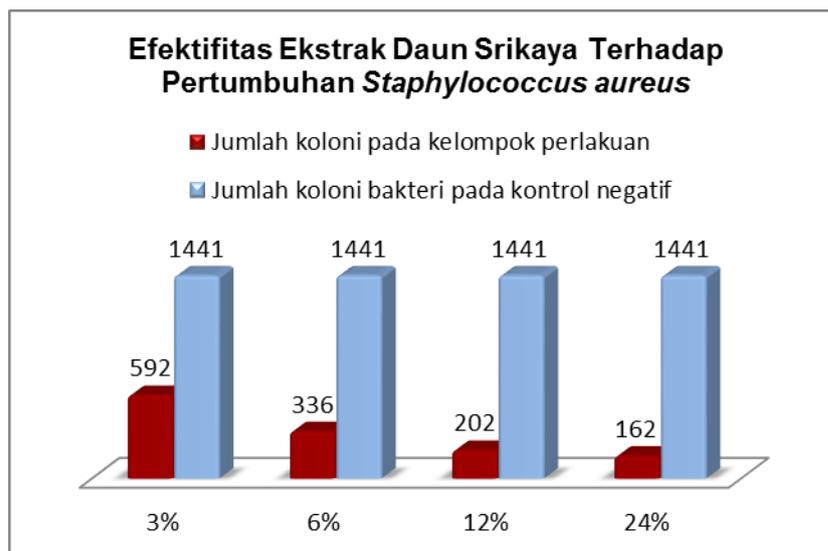


Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan:

- NN : Kontrol negatif
- DS1 : Konsentrasi 3%
- DS2 : Konsentrasi 6%
- DS3 : Konsentrasi 12%
- DS4 : Konsentrasi 24%
- PP : Kontrol positif

Perbandingan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* yang telah diberi perlakuan yang dibandingkan dengan kontrol negatif juga dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 5.2 Grafik perbandingan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kontrol negatif

Dari grafik di atas dapat dilihat bahwa pada setiap konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang berbanding terbalik dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) mulai dari konsentrasi 3% hingga konsentrasi 24%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) semakin turun jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh.

5.4 Analisa Data

Dari data hasil penelitian berupa rata-rata jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) pada berbagai konsentrasi kemudian dianalisis dengan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* dan data diolah dengan program *SPSS 16 for Windows*.

1. Uji *One Way* ANOVA

Uji *One Way* ANOVA merupakan uji hipotesis komparatif variabel numerik berdistribusi normal, lebih dari dua kelompok yang tidak berpasangan. Sebelum melakukan uji *One Way* ANOVA ada syarat-syarat yang harus dipenuhi, yaitu distribusi data harus normal dan varian data harus sama (Dahlan, 2008 dikutip dari Rahmalia, 2010). Pada uji normalitas dan uji homogenitas didapat nilai probabilitas (p) seperti pada tabel berikut:

Tabel 5.4 Nilai Probabilitas (p) Uji Normalitas

Konsentrasi Ekstrak Daun Srikaya		<i>Shapiro-Wilk</i>		
		Statistic	Df	Sig.
Jumlah Koloni	Kontrol negatif	.964	3	.637
<i>Staphylococcus aureus</i>	Konsentrasi ekstrak 3%	1.000	3	1.000
	Konsentrasi ekstrak 6%	1.000	3	1.000
	Konsentrasi ekstrak 12%	.964	3	.637
	Konsentrasi ekstrak 24%	.964	3	.637

Penelitian ini menggunakan uji beda menggunakan *Shapiro-Wilk* karena memiliki kurang dari 50 subjek atau responden. Uji *Shapiro-Wilk* dianggap lebih akurat ketika jumlah subjek yang dimiliki kurang dari 50. Keputusan uji normalitas data adalah dengan melihat sig. atau p value sebesar $0,01 > 0,05$ maka disimpulkan H_0 diterima berarti data yang diuji memiliki distribusi normal. Pada tabel uji *Shapiro-Wilk*, terlihat bahwa nilai signifikan untuk masing-masing kelompok ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) $>0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa distribusi data dari kelima kelompok tersebut berdistribusi normal (Santosa, 2007). Untuk uji homogenitas hasil penelitian dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 5.4 Nilai Probabilitas (p) Uji HomogenitasJumlah koloni *Staphylococcus aureus*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.456	5	12	.274

Pengujian homogenitas dimaksudkan untuk memberi keyakinan bahwa sekumpulan data yang dimanipulasi dalam serangkaian analisis memang berasal dari populasi yang tidak jauh berbeda keragamannya. Dari data di atas diperoleh hasil untuk nilai probabilitas (p) sebesar 0,274 ($>0,05$). Maka dapat diambil kesimpulan bahwa varian data hasil penelitian adalah sama.

Syarat-syarat untuk pengujian *One Way* ANOVA telah terpenuhi, maka hasil dari penelitian dapat dianalisis menggunakan uji *One Way* ANOVA. Uji *One Way* ANOVA dilakukan untuk menguji kelompok perlakuan yang memiliki rata-rata jumlah koloni bakteri yang berbeda signifikan atau tidak berbeda signifikan secara statistik. Hasil uji *One Way* ANOVA adalah sebagai berikut:

Tabel 5.5 Hasil Uji *One Way* ANOVA

ANOVA					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4087778.500	5	817555.700	4.126E3	.000
Within Groups	2378.000	12	198.167		
Total	4090156.500	17			

Hipotesis untuk uji *One Way* ANOVA adalah sebagai berikut:

- H_0 : Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

- b. H_1 : Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphyococcus aureus*.

Pengambilan keputusan uji *one way* ANOVA:

- a. Jika nilai probabilitas (p) $< 0,05$ maka H_0 ditolak
b. Jika nilai probabilitas (p) $> 0,05$ maka H_0 diterima

Nilai probabilitas pada uji ANOVA tersebut adalah 0,000 atau (p) $< 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara rata-rata jumlah koloni bakteri pada kedua kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan signifikan, maka digunakan uji *Post Hoc* LSD (Dahlan, 2008 dikutip dari Rahmalia, 2010).

2. Uji *Post Hoc* LSD

Dari uji *one way* ANOVA disimpulkan bahwa terdapat kelompok data yang mempunyai perbedaan rata-rata jumlah koloni diantara 6 kelompok perlakuan, sehingga dilakukan uji *Post Hoc* LSD untuk membandingkan *mean* antar kelompok dan untuk mengetahui data mana yang berbeda secara signifikan dengan kelompok perlakuan lain. Hasil uji *post hoc* LSD dari hasil penelitian adalah sebagai berikut:

Tabel 5.6 Hasil Uji *Post Hoc* LSD

Kelompok yang Dibandingkan		Nilai Probabilitas (p)	Signifikan/Tidak Signifikan	H ₀
Kontrol negatif	Ekstrak 3%	.000	Signifikan	Ditolak
	Ekstrak 6%	.000		
	Ekstrak 12%	.000		
	Ekstrak 24%	.000		
	Kontrol positif	.000		
Ekstrak 3%	Kontrol negatif	.000	Signifikan	Ditolak
	Ekstrak 6%	.000		
	Ekstrak 12%	.000		
	Ekstrak 24%	.000		
	Kontrol positif	.000		
Ekstrak 6%	Kontrol negatif	.000	Signifikan	Ditolak
	Ekstrak 3%	.000		
	Ekstrak 12%	.000		
	Ekstrak 24%	.000		
	Kontrol positif	.000		
Ekstrak 12%	Kontrol negatif	.000	Signifikan	Ditolak
	Ekstrak 3%	.000		
	Ekstrak 6%	.000		
	Ekstrak 24%	.005		
	Kontrol positif	.000		
Ekstrak 24%	Kontrol negatif	.000	Signifikan	Ditolak
	Ekstrak 3%	.000		
	Ekstrak 6%	.000		
	Ekstrak 12%	.005		
	Kontrol positif	.000		
Kontrol positif	Kontrol negatif	.000	Signifikan	Ditolak
	Ekstrak 3%	.000		
	Ekstrak 6%	.000		
	Ekstrak 12%	.000		
	Ekstrak 24%	.000		

Dari data di atas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dan semua semua kelompok perlakuan (Kelompok dengan konsentrasi ekstrak daun srikaya) mulai dari konsentrasi 3% hingga 24%. Perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif didapatkan pada kelompok ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dari konsentrasi 3% hingga 24%. Untuk masing-masing

kelompok perlakuan, mulai dari konsentrasi 3% hingga 24% terdapat perbedaan yang signifikan dengan tiap-tiap kelompok perlakuan lainnya.

5.5 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dan mengetahui berapa konsentrasi minimum yang dibutuhkan ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari *stock culture* milik Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Bakteri *Staphylococcus aureus* diidentifikasi menggunakan pewarnaan Gram menunjukkan gambaran sel bakteri berbentuk kokus (bulat) yang bergerombol dan berwarna ungu (Gram positif), kemudian bakteri ditanam kembali pada media NA untuk digunakan dalam pengulangan-pengulangan berikutnya (isolat bakteri yang digunakan sama).

Tahap pertama dari penelitian ini untuk mengetahui jumlah koloni bakteri pada kelompok kontrol positif maupun kontrol negatif. Jumlah koloni bakteri tersebut akan digunakan sebagai dasar untuk tahap penelitian akhir. Pada penelitian ini kontrol negatif berisi media MHA dan suspensi bakteri (tanpa penambahan ekstrak) sebagai kontrol negatif untuk membuktikan bahwa koloni bakteri mati karena penambahan ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*), serta digunakan antibiotik gentamisin dengan konsentrasi 4% sebagai pembanding efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena antibiotik gentamisin menjadi upaya untuk pengendalian infeksi berat yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

Pada tahap perhitungan jumlah koloni bakteri didapatkan rata-rata jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada kontrol negatif adalah 1441 koloni, sedangkan pada kontrol positif tidak ditemukan adanya bakteri yang tumbuh. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada kontrol negatif ini yang digunakan dasar untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM).

Dari hasil penelitian dapat dilihat adanya perbedaan jumlah koloni bakteri yang tumbuh menunjukkan adanya perbedaan efektifitas konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) pada masing-masing perlakuan. Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang berbanding terbalik dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) mulai dari konsentrasi 3% hingga konsentrasi 24%. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) semakin sedikit koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh.

Data hasil penelitian kemudian di uji dengan *one way* ANOVA untuk menguji adanya perbedaan yang signifikan di antara keenam kelompok penelitian. Pada penelitian ini, hasil dari uji normalitas menunjukkan distribusi data yang normal dan uji homogenitas menunjukkan varian data yang sama. Dengan demikian, syarat untuk uji ANOVA telah terpenuhi. Hasil dari uji ANOVA didapatkan nilai probabilitas ($p = 0,000 < 0,05$), yang berarti bahwa ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) memiliki efektifitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu, dari uji *one way* ANOVA dapat disimpulkan bahwa paling tidak terdapat kelompok data yang mempunyai perbedaan rata-rata jumlah koloni bakteri yang bermakna di antara keenam kelompok yang ada, sehingga dilakukan uji *Post Hoc* LSD untuk membandingkan *mean* antar kelompok dan untuk

mengetahui kelompok data mana yang berbeda secara signifikan dengan kelompok lainnya.

Hasil analisis *Post Hoc* LSD dapat dilihat adanya perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dan semua kelompok perlakuan mulai dari konsentrasi 3% hingga 24%. Perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif didapatkan pada semua kelompok ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) dari konsentrasi 3% hingga 24%. Untuk konsentrasi tertinggi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) yaitu konsentrasi 24% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif (tidak terdapat koloni pada kontrol positif) sehingga ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan konsentrasi 24% belum dapat dijadikan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Pelczar, 1988). Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) diperlukan untuk mengetahui efektifitas antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini, pada konsentrasi 24% jumlah koloni yang tumbuh tidak berbeda jauh bila dibandingkan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada konsentrasi 12%. Namun, melihat dari hasil penelitian bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka jumlah koloni bakteri makin menurun, sehingga kemungkinan pada konsentrasi yang lebih tinggi (dua kali lipat dari konsentrasi 24%) jumlah koloni yang tumbuh semakin turun atau bahkan tidak tumbuh koloni.

Menurunnya jumlah koloni bakteri yang tumbuh bila dibandingkan dengan kontrol negatif seperti diuraikan diatas menunjukkan bahwa ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) berpotensi sebagai antibakteri terhadap

Staphylococcus aureus. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Yunikawati *et al* (2013) bahwa perasan daun srikaya (*Annona squamosa L.*) mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, saponin dan tannin yang memiliki aktifitas bakteriostatik.

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein sehingga mengganggu proses metabolisme (Poeloengan, 2010 dikutip dari Yunikawati *et al*, 2013). Mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.

Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Saponin berfungsi sebagai antibakteri dan antimikroba (Nio, 1989 dikutip dari Budiyanti, 2010). Saponin diketahui mempunyai efek menghambat pertumbuhan mikroba secara *in vitro* melalui proses perusakan membran sel bakteri dengan cara berikatan dengan kompleks polisakarida pada dinding sel (Papadoupulou *et al.*, 1999 dikutip dari Siregar, 2010). Interaksi saponin dengan dinding sel akan menyebabkan dinding dan membran sel menjadi rusak hingga akhirnya bakteri lisis.

Tannin merupakan senyawa metabolit sekunder yang sering ditemukan pada tanaman. Tannin mempunyai mekanisme mempresipitasi protein bakteri sehingga terjadi inaktivasi enzim yang diproduksi bakteri dan menginaktivasi protein transport dinding sel bakteri sehingga merusak dinding sel bakteri (Harvey dan John, 2004; Duke, 2009). Aktifitas tannin dipengaruhi oleh kemampuan mereka untuk menginaktivasi adhesi mikroba, enzim, protein transport dinding sel. Selain itu, tannin juga dapat membentuk kompleks dengan polisakarida. Tannin terkondensasi diduga

akan menghambat pertumbuhan dan aktifitas protease dari bakteri (Cowan, 1999 dikutip dari Siregar, 2010).

Untuk kontrol positif pada penelitian ini digunakan antibiotik gentamisin injeksi dengan konsentrasi 4% (40mg/ml) tidak ditemukan adanya koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh. Hal ini disebabkan gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida. Pengaruh aminoglikosida adalah menghambat sintesis protein dan menyebabkan salah baca dalam penterjemahan mRNA bakteri. Tetapi, antibiotik gentamisin mempunyai efek samping seperti alergi, reaksi iritasi dan toksik, serta perubahan biologik (Istiantoro dan Gan, 2007). Dari beberapa efek samping antibiotik gentamisin di atas yang tidak ditemukan pada ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*), menjadi alasan kuat penelitian ini untuk dapat dikembangkan lebih jauh.

Namun pada penelitian ini tentu ditemukan keterbatasan, antara lain: pembuatan ekstrak yang bersifat kasar, sehingga tidak diketahui secara pasti bahan aktif apa saja yang terkandung dalam ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) yang digunakan dan seberapa banyak presentase masing-masing bahan aktif. Selain itu, tidak adanya standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam, memungkinkan diperolehnya hasil ekstrak dengan efek yang berbeda apabila proses ekstraksi dilakukan pada laboratorium yang berbeda. Faktor lainnya yang mungkin mempengaruhi keefektifan dari ekstrak yang digunakan, yaitu lama penyimpanan ekstrak. Biasanya, semakin lama ekstrak disimpan, sensitifitas ekstrak akan semakin menurun. Oleh karena itu, untuk penelitian-penelitian selanjutnya, perlu ada standarisasi, baik dari pemilihan bahan yang digunakan (daun srikaya), alat dan proses ekstraksi, serta lama penyimpanan ekstrak sehingga apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*), maka semakin rendah jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) yang dapat menghambat pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* diduga dua kali lipat dari konsentrasi 24%.
3. Ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

6.2 Saran

6.2.1 Bagi Masyarakat

Diharapkan dapat menjadi wacana bagi masyarakat untuk pemanfaatan daun srikaya (*Annona squamosa L.*) sebagai obat antibiotik alami yang murah, mudah didapat dan tidak memiliki efek samping bila dibandingkan dengan Bahan Kimia Obat (BKO).

6.2.2 Bagi Institusi Pendidikan

1. Dapat menjadi acuan untuk melakukan sosialisasi atau penyuluhan tentang infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan cara pengobatannya menggunakan antibiotik alami.
2. Perlu ditingkatkan lagi dalam menyediakan referensi untuk mendukung mahasiswa dalam melakukan penelitian khususnya tentang efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

6.2.3 Bagi Peneliti Selanjutnya

1. Perlu dilakukan penelitian secara *in vitro* lanjutan dengan konsentrasi lebih dari 24% guna mengetahui efektifitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) yang mendekati efektifitas antibiotik gentamisin.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui prosentase kandungan bahan-bahan aktif dalam ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dan bahan aktif yang paling berperan sebagai antimikroba pada ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) tersebut.
3. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) sebagai antimikroba terhadap mikroba lainnya, baik terhadap bakteri lain, fungi, parasit ataupun virus.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. (2007). *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: Penerbit ITB Press
- Agromedia, redaksi. 2008. *Buku Pintar Tanaman Hias*. PT. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Backer, A and Van Den Brink, B., 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Volume I. N.V.P. The Netherlands, Noordhoff-Groningen.
- Barve B & Pandey N, 2011. "Phytochemical and Pharmacological Review on *Annona Squamosa Linn*". *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Science*. Vol. 2(4).
- Bonang G., 1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi ke-2*. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia.
- Bosco, J.A., Slover, J.D., Haas, J.P. 2010. *Perioperative Strategies for Decreasing Infection*. *Journal of Bone and Joint Surgery*, Vol 92-A.
- Brooks G.F, Butel JS, Carroll KC, Morse SA. Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2007. *Medical Microbiology*. Ed. 2. USA : Mc Graw Hill.
- Brooks G.F., Butel, J.S., Morse, S.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*, Penerjemah: Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Salemba Medika, Jakarta.
- Budiyanti, Rani Tiyas. 2010. *Efek Antihelmintik Infusa Herba Sambiloto (Andrographis paniculata, Nees) Terhadap Ascaris suum secara In vitro*. Skripsi Publikasi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Cavanaugh, D.L., Berry, J., Yarboro, S.R., Dahners, E.L. 2009. *Better Prophylaxis Against Surgical Site Infection with Local as Well as Systemic Antibiotics*. *Journal of Bone and Joint Surgery*

- Cronquist, A. (1981). *An Intergrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Departemen Kesehatan RI Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan
Direktorat Pengawasan Obat Tanaman. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat*. Jakarta
- Duke J. 2009. *Phytochemical and Ethnobotanical Database-ANDROGRAPHILIDE*
<http://sun.ars-gri.gov:8080/npgspub/xsql/duke/chemdisp.xsql?chemical=ANDROGRAPHOLIDE>
- Fernandez, Beatrix Anna Maria, 2013. *Studi Penggunaan Antibiotik Tanpa Resep di Kabupaten Menggarai dan Manggarai – NTT*. Universitas Surabaya.
- Gibson, J.M., 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Greenwood. 1995. *Antibiotic suscepbility (sensitivity) test, antimicrobial and chemotherapy*. USA: Mc Graw Hill Company
- Harvey W.F. dan John U.L, 2005. *Kamala*.
http://www.ibiblio.org/herdmeb/eclectic/kings/malLOTUS_phil.html
- Hidayat, A. Aziz Alimul, 2012. *Riset Keperwatan dan Teknik Penulisan Ilmiah Edisi 2*. Salemba Medika.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Brooks, G.F., Butel, J.S. dan Ornston, L.N. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed. ke-26.
- Manoi, F. & Balitro. 2009. *Binahong (Anredera Cordifolia) Sebagai Obat*. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Mulyati, Endah Sri, 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Ceremil (Phyllanthus acidus (L.) Skeels) Terhadap Staphylococcus*

aureus dan *Escherichia coli* dan Bioautografinya. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Nio KO. 1989. *Zat-zat Toksik Yang Secara Alamiah Ada Pada Bahan Makanan Nabati*. Cermin Dunia Kedokteran no.58.

Notoatmodjo,s. 2005. *Metodologi penelitian kesehatan*. Jakarta : PT Rineka Cipta

_____. 2010. *Ilmu Perilaku Kesehatan*. Jakarta : PT Rineka Cipta

Nursalam. 2011. *Manajemen Keperawatan*.edisi 3. Jakarta : Salemba Medika.

Pelczar, M. J. (1988). *Dasar – Dasar Mikrobiologi II*. Jakarta: Penerbit UI Press.

Poeloengan, M. dan Praptiwi. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana Linn)*. Jurnal Publikasi.

Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Penerbit Airlangga

Prayoga, Eko. 2013. *Perbandingan Efek ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

Purwita, A., Indah N.K., Trimulyono G., 2013. *Peggunaan Ekstrak Daun Srikaya (Annona Squamosa L.) Sebagai Pengendali Jamur Fusarium oxysporum Secara In Vitro*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Surabaya.

Refnadita et al., 2004. *Pola Kepekan Kuman Terhadap Antibiotika di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002*. Jakarta.

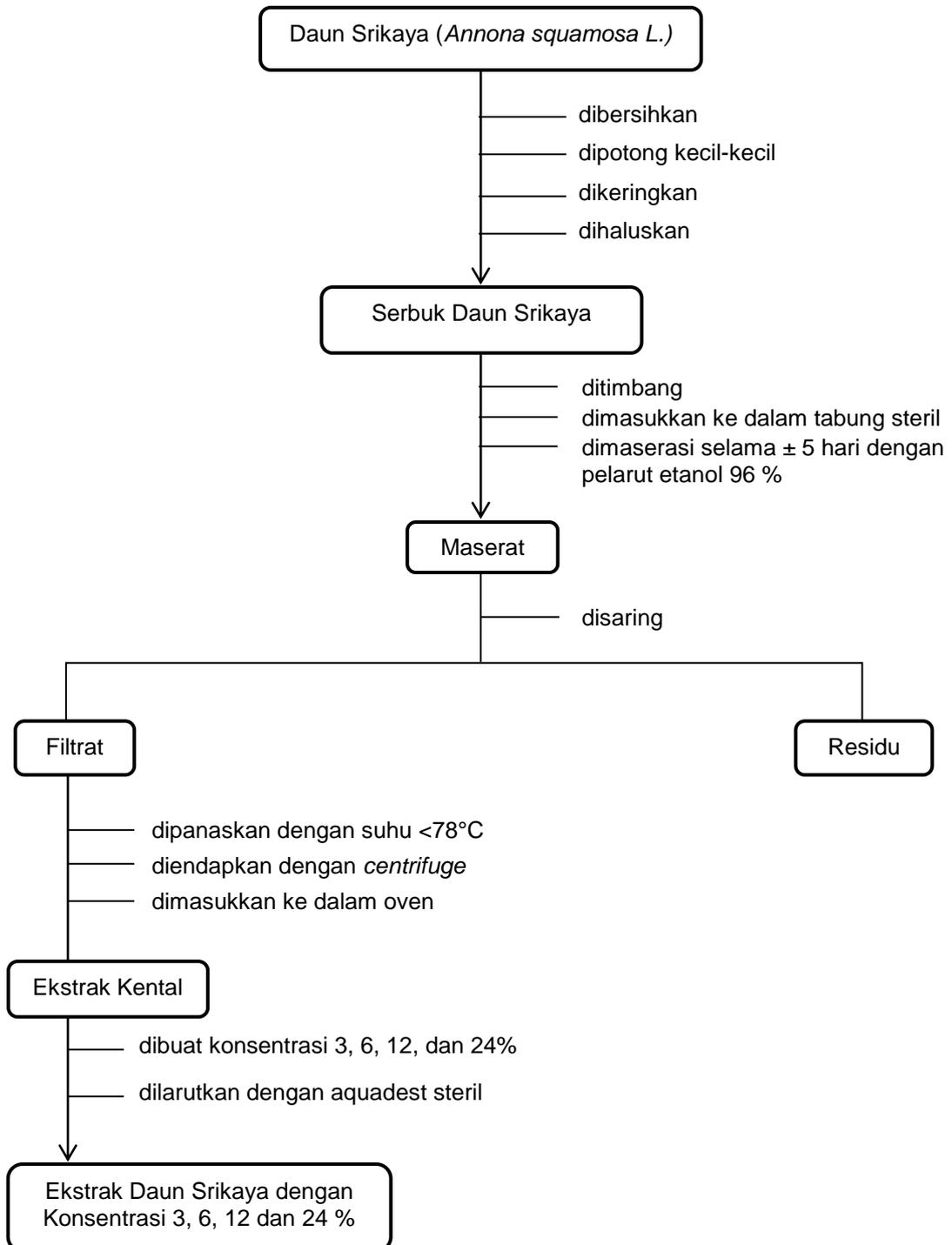
Ristek-MTIC AWARD. 2007. *Sabun Natural Pencegah Penuaan Dini dari Ekstrak Daun Karet (Hevea brasiliensis) dengan Kandungan Senyawa-Senyawa Antibakteri dan Antioksidan*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jenderal Achmad Yani. Penelitian.

Saha, Rajsekhar. 2011. *Pharmacognosy and Pharmacology of Annona squamosal: A review*. Department of Pharmacology, RKDF College of Pharmacy, Bhopal India.

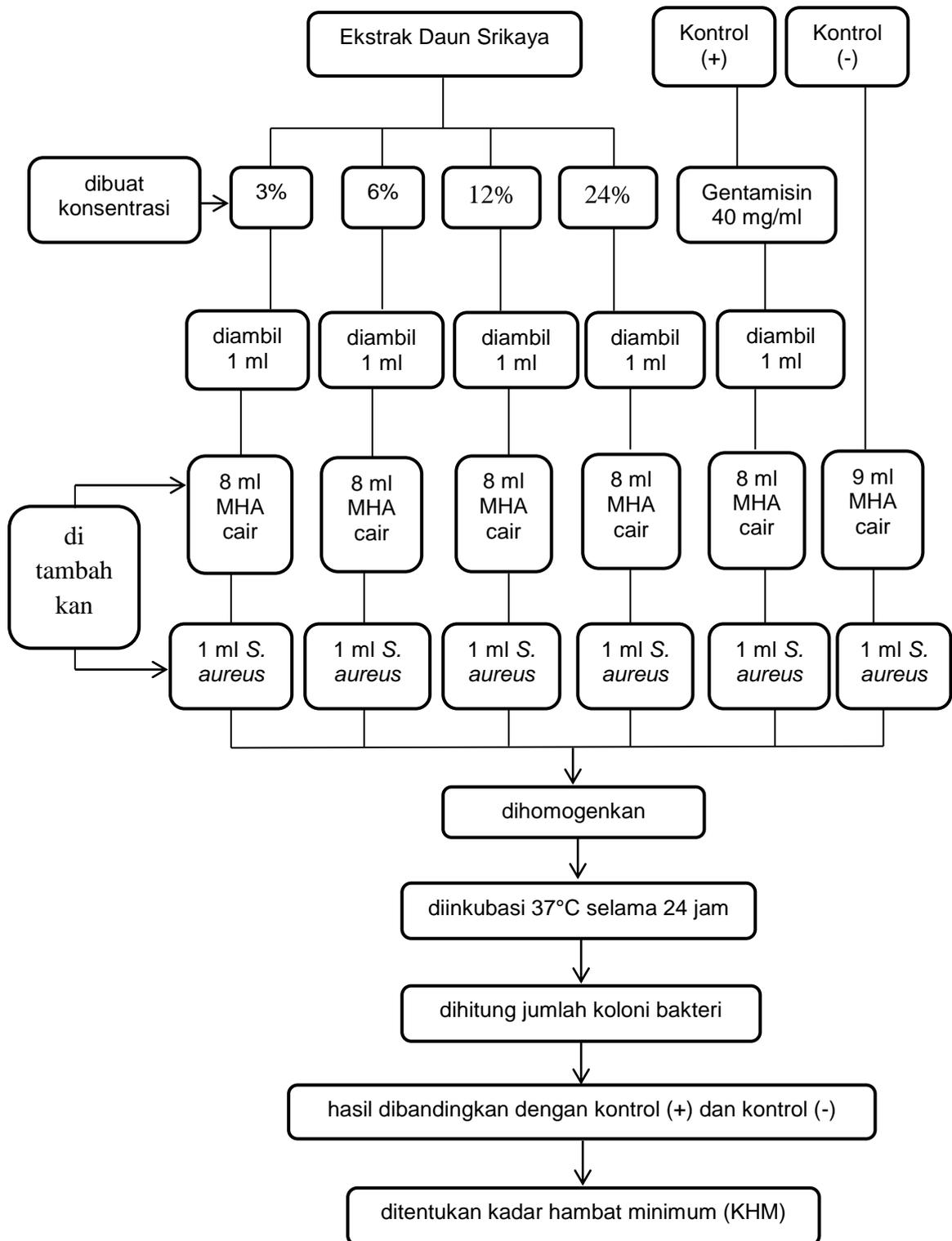
- Saryono. 2011. *Metodologi Penelitian Kualitatif dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Sentana, Okkie Mharga. 2010. *Efek Antihelmintik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum americanum L.) Terhadap Kematian Ascaris suum Goeze sp Secara in vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Wirahmi, Nori., Halim A., Henny L., 2011. *Analisa Penggunaan Kombinasi Gentamisin dan Ampisilin pada Pasien Pediatri di Bangsal Anak RSUD Dr. M. Yunus Bengkulu*. Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
- Yadnya, I Gusti Ngurah Kusuma, 2014. *Injeksi Gentamicin Lokal Menurunkan Jumlah Koloni Kuman Yang Sama Dengan Injeksi Gentamicin Sistemik Pada Internal Fiksasi Patah Tulang Femur Tikus Dengan Inokulasi Staphylococcus aureus*. Universitas Udayana Denpasar.
- Yunikawati, Maria Pristi Anris, 2013. *Efektifitas Perasan Daun Srikaya Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Escherichia coli*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
- Warsa, U.C. 1993. *Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi, Binarupa Aksara, Jakarta.

PROSEDUR PENELITIAN EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

A. Pembuatan Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)



B. Skema Pemeriksaan Sampel



Keterangan: setiap perlakuan diulang sebanyak 3x

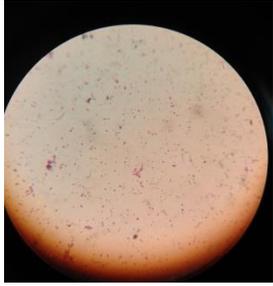
**HASIL PERHITUNGAN JUMLAH KOLONI EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN
SRIKAYA (*Annona squamosa L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
*Staphylococcus aureus***

No.	Sampel	Pengulangan	Jumlah Koloni	Rata-rata	Hasil
1	DS1	U1	592	592	P
		U2	568		
		U3	616		
2	DS2	U1	352	336	P
		U2	336		
		U3	320		
3	DS3	U1	192	202	P
		U2	200		
		U3	216		
4	DS4	U1	152	162	P
		U2	160		
		U3	176		
5	PP (+)	U1	0	0	-
		U2	0		
		U3	0		
6	NN (-)	U1	1440	1441	-
		U2	1435		
		U3	1450		

Keterangan: P = Positif

N = Negatif

PENGAMATAN SECARA MIKROSKOP ISOLAT BAKTERI <i>Staphylococcus aureus</i>	
GAMBAR	KETERANGAN
 <p>Gambar 3.1 Isolat murni <i>Staphylococcus aureus</i></p>	Isolat murni <i>Staphylococcus aureus</i> pada media NA
 <p>Gambar 3.2 <i>Staphylococcus aureus</i> pada isolat murni secara Mikroskopis</p>	Pengamatan secara mikroskopis isolat murni. Bentuk: bulat bergerombol Warna: Ungu (Gram positif)
 <p>Gambar 3.3 <i>Staphylococcus aureus</i> pada media NA secara mikroskopis</p>	Pengamatan secara mikroskopis pada media NA (pemindahan kedua) Bentuk: bulat bergerombol Warna: Ungu (Gram positif)



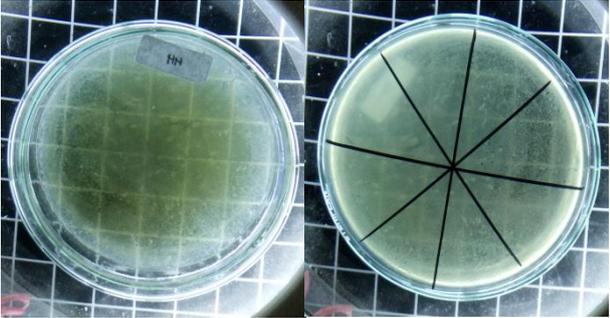
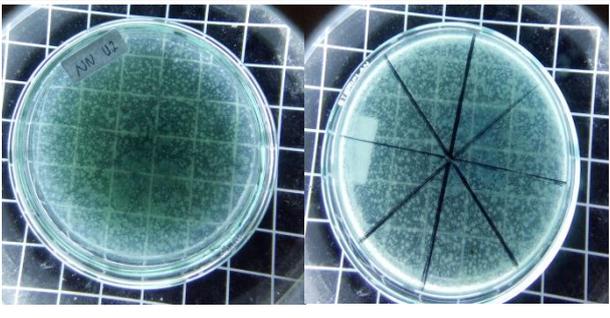
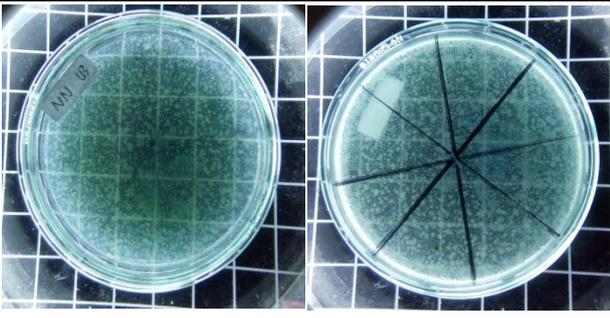
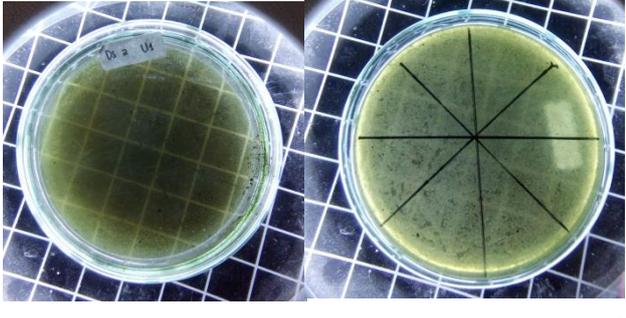
Gambar 3.4 *Staphylococcus aureus* pada media NB secara mikroskopis

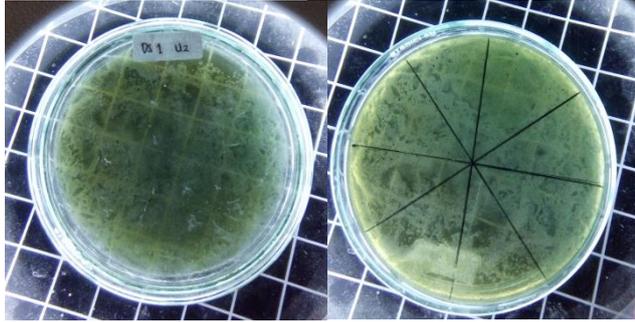
Pengamatan secara mikroskopis pada media NB (untuk pembuatan suspensi bakteri)

Bentuk: bulat bergerombol

Warna: Ungu (Gram positif)

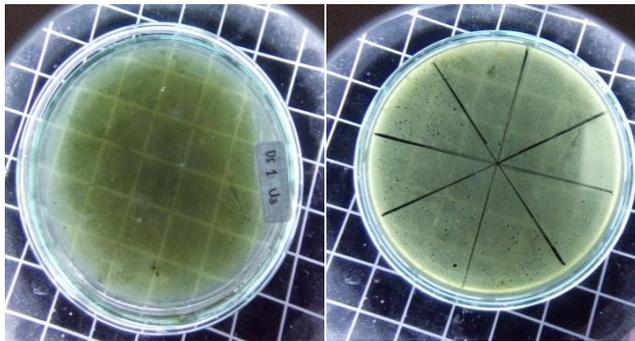
PERHITUNGAN JUMLAH KOLONI EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

GAMBAR	KETERANGAN
 <p>Gambar 4.1 Perhitungan jumlah koloni NN(-) U1</p>	Kontrol negatif Ulangan ke-1 Jumlah koloni 1440
 <p>Gambar 4.2 Perhitungan jumlah koloni NN(-) U2</p>	Kontrol negatif Ulangan ke-2 Jumlah koloni 1435
 <p>Gambar 4.3 Perhitungan jumlah koloni NN(-) U3</p>	Kontrol negatif Ulangan ke-3 Jumlah koloni 1450
 <p>Gambar 4.4 Perhitungan jumlah koloni DS1 U1</p>	Konsentrasi 3% Ulangan ke-1 Jumlah Koloni 592



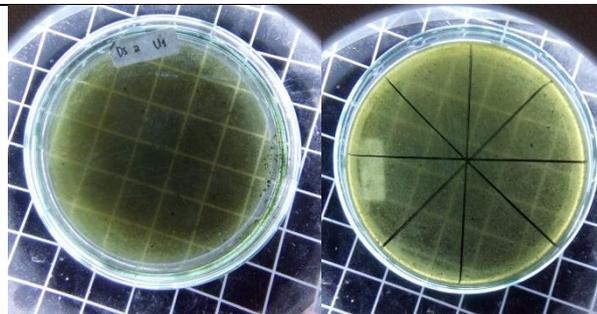
Gambar 4.5 Perhitungan jumlah koloni DS1 U2

Konsentrasi 3%
Ulangan ke-2
Jumlah koloni
568



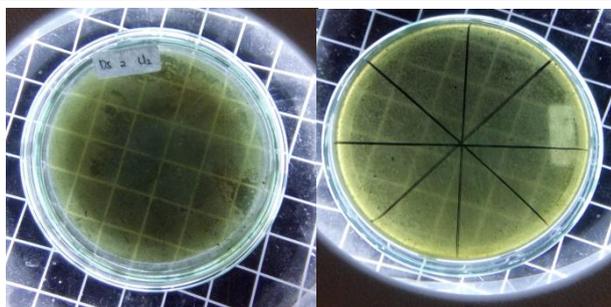
Gambar 4.6 Perhitungan jumlah koloni DS1 U3

Konsentrasi 3%
Ulangan ke-3
Jumlah koloni
616



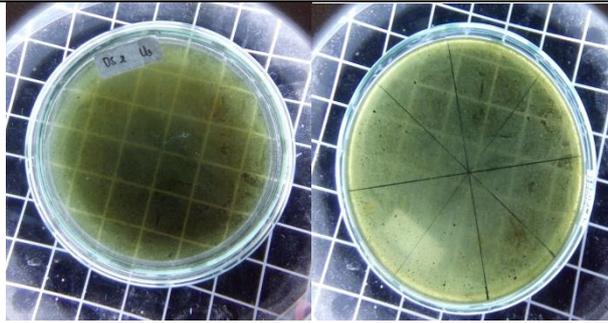
Gambar 4.7 Perhitungan koloni DS2 U1

Konsentrasi 6%
Ulangan ke-1
Jumlah koloni
352



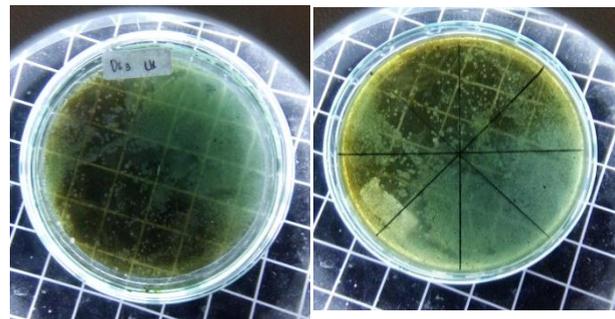
Gambar 4.8 Perhitungan koloni DS2 U2

Konsentrasi 6%
Ulangan ke-2
Jumlah koloni
336



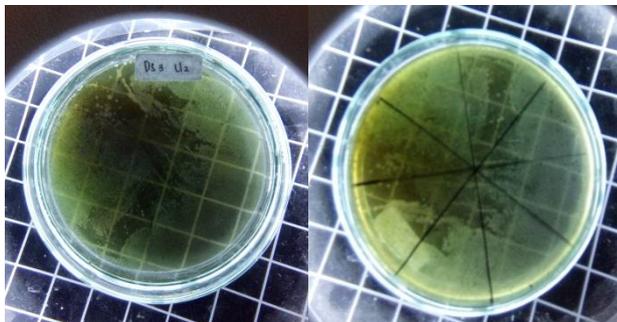
Gambar 4.9 Perhitungan koloni DS2 U3

Konsentrasi 6%
Ulangan ke-3
Jumlah koloni
320



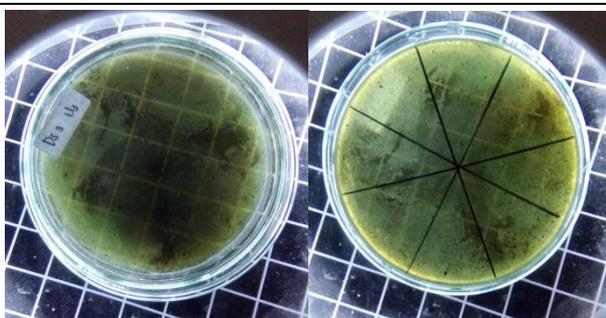
Gambar 4.10 Perhitungan koloni DS3 U1

Konsentrasi
12% Ulangan
ke-1
Jumlah koloni
192



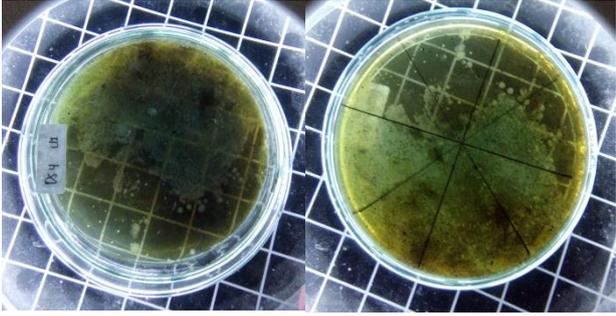
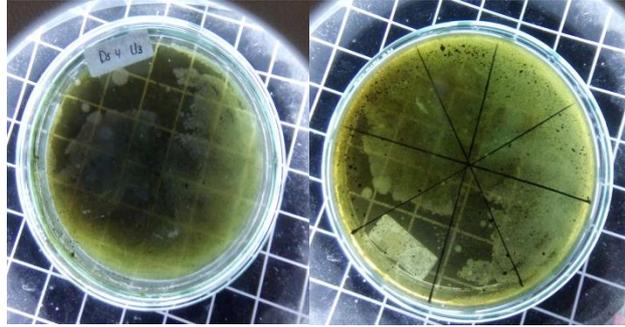
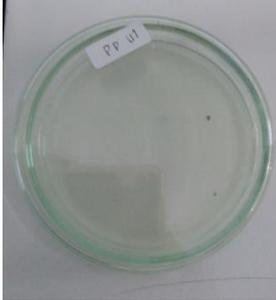
Gambar 4.11 Perhitungan koloni DS3 U2

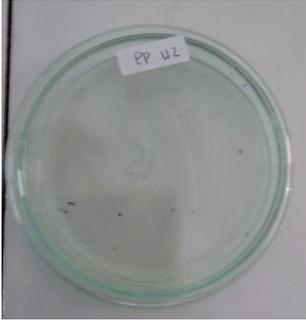
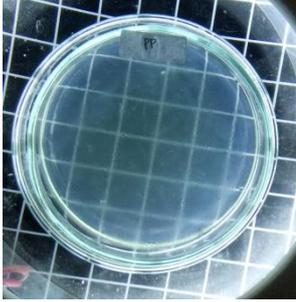
Konsentrasi
12% Ulangan
ke-2 Jumlah
koloni 200



Gambar 4.12 Perhitungan koloni DS3 U3

Konsentrasi
12% Ulangan
ke-3
Jumlah koloni
216

 <p>Gambar 4.13 Perhitungan koloni DS4 U1</p>	<p>Konsentrasi 24% Ulangan ke-1 Jumlah koloni 152</p>
 <p>Gambar 4.14 Perhitungan koloni DS4 U2</p>  <p>Gambar 4.15 Perhitungan koloni DS4 U3</p>	<p>Konsentrasi 24% Ulangan ke-2 Jumlah koloni160</p> <p>Konsentrasi 24% Ulangan ke-3 Jumlah koloni 176</p>
 <p>Gambar 4.16 Perhitungan koloni PP(+) U1</p>	<p>Kontrol positif Ulangan ke-1 Tidak tumbuh koloni</p>

 <p>Gambar 4.17 Perhitungan koloni PP(+) U2</p>	<p>Kontrol positif Ulangan ke-2 Tidak tumbuh koloni</p>
 <p>Gambar 4.18 Perhitungan koloni PP(+) U3</p>	<p>Kontrol positif Ulangan ke-3 Tidak tumbuh koloni</p>

Keterangan:

- DS1` : Ekstrak daun srikaya konsentrasi 3%
- DS2 : Ekstrak daun srikaya konsentrasi 6%
- DS3 : Ekstrak daun srikaya konsentrasi 12%
- DS4 : Ekstrak daun srikaya konsentrasi 24%
- PP (+) : Kontrol positif (antibiotik gentamisin)
- NN (-) : Kontrol negatif (tanpa ekstrak)
- U1 : Ulangan ke-1
- U2 : Ulangan ke-2
- U3 : Ulangan ke-3

Lampiran 5

```

EXAMINE VARIABLES=EfektifitasEkstrakDaunSrikaya BY KonsentrasiEkst
rakDaunSrikaya
/PLOT BOXPLOT HISTOGRAM NPLOT
/COMPARE GROUP
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.
    
```

Case Processing Summary

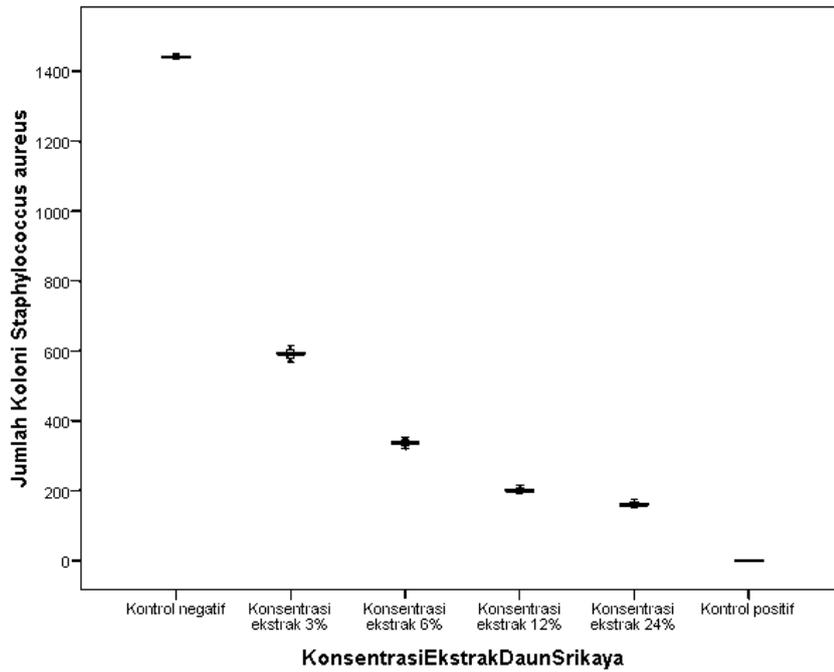
KonsentrasiEkstrakDaunSrikaya		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jumlah Koloni Staphylococcus aureus	Kontrol negatif	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Konsentrasi ekstrak 3%	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Konsentrasi ekstrak 6%	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Konsentrasi ekstrak 12%	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Konsentrasi ekstrak 24%	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Kontrol positif	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Tests of Normality^b

KonsentrasiEkstrakDaunSrikaya		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Koloni Staphylococcus aureus	Kontrol negatif	.253	3	.	.964	3	.637
	Konsentrasi ekstrak 3%	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Konsentrasi ekstrak 6%	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Konsentrasi ekstrak 12%	.253	3	.	.964	3	.637
	Konsentrasi ekstrak 24%	.253	3	.	.964	3	.637
	Kontrol positif	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

b. Jumlah Koloni Staphylococcus aureus is constant when KonsentrasiEkstrakDaunSrikaya = Kontrol positif. It has been omitted.



```

ONEWAY EfektifitasEkstrakDaunSrikaya BY KonsentrasiEkstrakDaunSrikaya
  /STATISTICS HOMOGENEITY
  /PLOT MEANS
  /MISSING ANALYSIS
  /POSTHOC=LSD ALPHA(0.05) .

```

Oneway

[DataSet0]

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Koloni Staphylococcus aureus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.456	5	12	.274

ANOVA

Jumlah Koloni Staphylococcus aureus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4087778.500	5	817555.700	4.126E3	.000
Within Groups	2378.000	12	198.167		
Total	4090156.500	17			

Multiple Comparisons

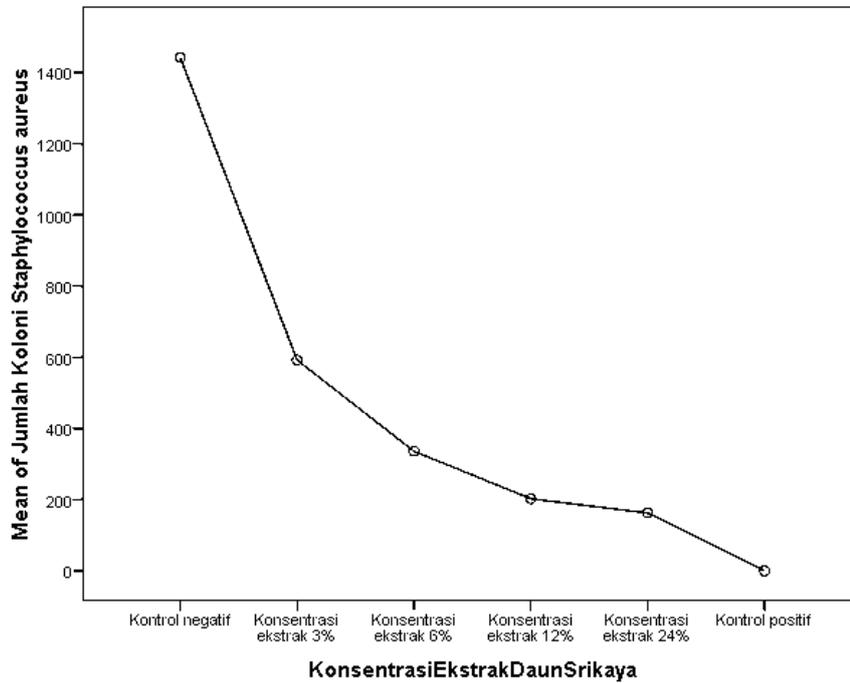
Jumlah Koloni Staphylococcus
aureus
LSD

(I) KonsentrasiE (J) kstrakDaunSr ikaya	KonsentrasiEkstra kDaunSrikaya	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Konsentrasi ekstrak 3%	849.667 [*]	11.494	.000	824.62	874.71
	Konsentrasi ekstrak 6%	1105.667 [*]	11.494	.000	1080.62	1130.71
	Konsentrasi ekstrak 12%	1239.000 [*]	11.494	.000	1213.96	1264.04
	Konsentrasi ekstrak 24%	1279.000 [*]	11.494	.000	1253.96	1304.04
	Kontrol positif	1441.667 [*]	11.494	.000	1416.62	1466.71
Konsentrasi ekstrak 3%	Kontrol negatif	-849.667 [*]	11.494	.000	-874.71	-824.62
	Konsentrasi ekstrak 6%	256.000 [*]	11.494	.000	230.96	281.04
	Konsentrasi ekstrak 12%	389.333 [*]	11.494	.000	364.29	414.38
	Konsentrasi ekstrak 24%	429.333 [*]	11.494	.000	404.29	454.38
	Kontrol positif	592.000 [*]	11.494	.000	566.96	617.04
Konsentrasi ekstrak 6%	Kontrol negatif	-1105.667 [*]	11.494	.000	-1130.71	-1080.62
	Konsentrasi ekstrak 3%	-256.000 [*]	11.494	.000	-281.04	-230.96
	Konsentrasi ekstrak 12%	133.333 [*]	11.494	.000	108.29	158.38
	Konsentrasi ekstrak 24%	173.333 [*]	11.494	.000	148.29	198.38
	Kontrol positif	336.000 [*]	11.494	.000	310.96	361.04
Konsentrasi ekstrak 12%	Kontrol negatif	-1239.000 [*]	11.494	.000	-1264.04	-1213.96
	Konsentrasi ekstrak 3%	-389.333 [*]	11.494	.000	-414.38	-364.29
	Konsentrasi ekstrak 6%	-133.333 [*]	11.494	.000	-158.38	-108.29
	Konsentrasi ekstrak 24%	40.000 [*]	11.494	.005	14.96	65.04
	Kontrol positif	202.667 [*]	11.494	.000	177.62	227.71
Konsentrasi ekstrak 24%	Kontrol negatif	-1279.000 [*]	11.494	.000	-1304.04	-1253.96
	Konsentrasi ekstrak 3%	-429.333 [*]	11.494	.000	-454.38	-404.29

	Konsentrasi ekstrak 6%	-173.333*	11.494	.000	-198.38	-148.29
	Konsentrasi ekstrak 12%	-40.000*	11.494	.005	-65.04	-14.96
	Kontrol positif	162.667*	11.494	.000	137.62	187.71
Kontrol positif	Kontrol negatif	1441.667*	11.494	.000	-1466.71	-1416.62
	Konsentrasi ekstrak 3%	-592.000*	11.494	.000	-617.04	-566.96
	Konsentrasi ekstrak 6%	-336.000*	11.494	.000	-361.04	-310.96
	Konsentrasi ekstrak 12%	-202.667*	11.494	.000	-227.71	-177.62
	Konsentrasi ekstrak 24%	-162.667*	11.494	.000	-187.71	-137.62

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

Means Plots



**DOKUMENTASI EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SRIKAYA
(*Annona squamosa L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***



Gambar 6.1 Daun srikaya



Gambar 6.2 Daun srikaya kering yang telah diblender



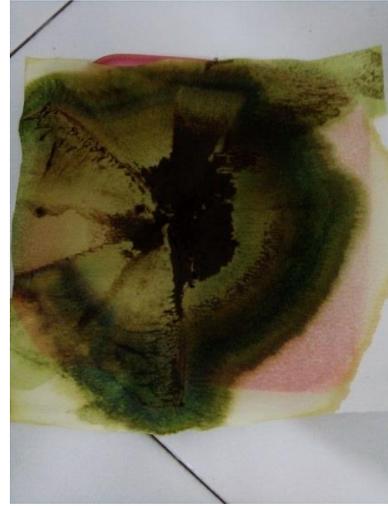
Gambar 6.3 Proses pengadukan rendaman dengan pelarut etanol 96% kemudian direndam selama 5 hari



Gambar 6.4 Proses penyaringan



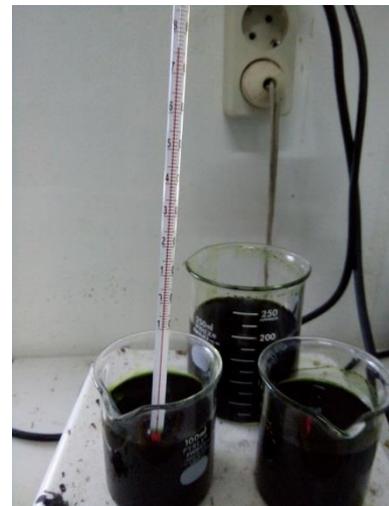
Gambar 6.5 Proses penyaringan



Gambar 6.6 Residu



Gambar 6.7 Pemanasan di atas *hot plate*



Gambar 6.8 Pemanasan dengan suhu $<78^{\circ}\text{C}$



Gambar 6.9 Proses pembakaran untuk memastikan bahwa etanol telah menguap



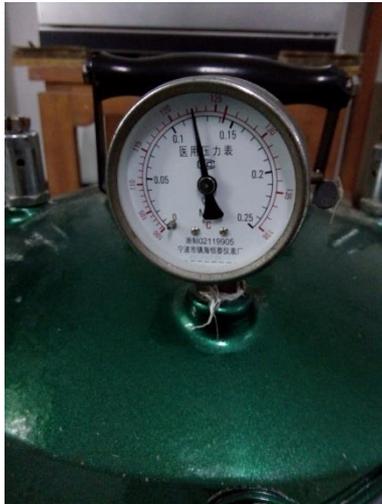
Gambar 6.10 Ekstrak kental yang dihasilkan



Gambar 6.11 Menimbang media MHA



Gambar 6.12 Penambahan 150 ml aquadest kemudian dipanaskan di atas *hot plate*



Gambar 6.13 Proses sterilisasi media pada *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit



Gambar 6.14 Isolat murni *Staphylococcus aureus*



Gambar 6.15 Pemindahan kedua dari isolat murni *Staphylococcus aureus* pada media NA dan NB



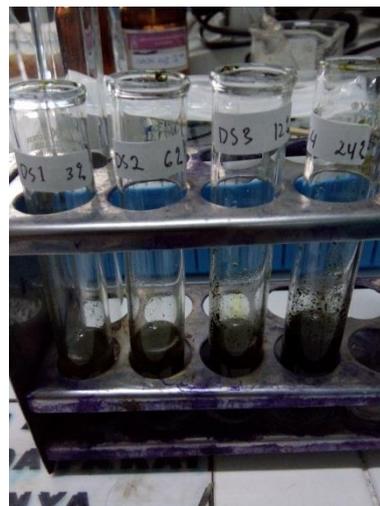
Gambar 6.16 Proses penimbangan ekstrak kental



Gambar 6.17 Pembuatan stok dengan konsentrasi 30%



Gambar 6.18 Dilakukan pengenceran 3%, 6%, 12% dan 24%



Gambar 6.19 Konsentrasi ekstrak daun srikaya 3%, 6%, 12% dan 24%



Gambar 6.20 Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 6.21 Suspensi bakteri yang diencerkan dengan NaCl



Gambar 6.22 Pengambilan 8 ml media MHA



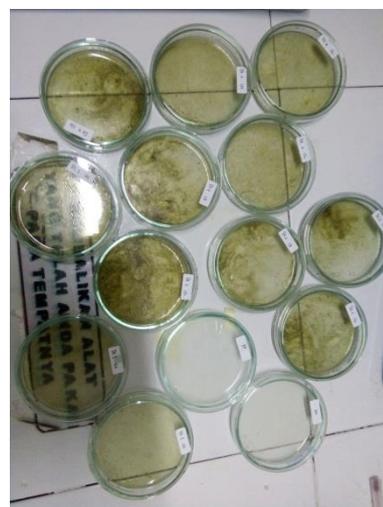
Gambar 6.23 Pengambilan 1 ml ekstrak daun srikaya



Gambar 6.24 Pengambilan 1 ml suspensi bakteri



Gambar 6.25 Pengambilan 1 ml kontrol positif



Gambar 6.26 Tahap akhir yaitu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam

Lampiran 7

Dokumentasi: Kamera Oppo Neo 7 beresolusi 8 MP setara 3264 x 2448 pixels

LEMBAR KONSULTASI I

Nama : Andita Fitriani
NIM : 1313110041
Judul : Efektifitas Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)
terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara *in vitro*
Pembimbing I : Erni Setiyorini S.KM., M.M

No.	Tanggal	Hasil Konsultasi
1	07 Maret 2016	Revisi BAB I - Penyusunan dalam tiap paragraf dalam latar belakang
2	10 Maret 2016	Revisi BAB I
3	11 Maret 2016	Acc Bab I Lanjut BAB II
4	12 April 2016	Revisi BAB II - Metode Ekstraksi - Metode Uji Daya Hambat Bakteri
5	18 April 2016	Acc BAB II Lanjut BAB III
6	26 April 2016	Acc BAB III Lanjut BAB IV
7	02 Mei 2016	Revisi BAB IV Diperhatikan rumus pengenceran pada pembuatan suspensi bakteri
8	11 Mei 2016	Acc BAB IV Dilengkapi Instrumen maju sidang proposal
9	21 Juni 2016	Revisi Pembahasan
10	25 Juni 2016	Revisi Bab VI dan Lampiran
11	29 Juni 2016	Acc maju hasil KTI
12	25 Juni 2016	Penambahan pembahasan KHM, Lampiran gambar penelitian

Mengetahui,

Pembimbing I

Erni Setiyorini S.KM., M.M

LEMBAR KONSULTASI II

Nama : Andita Fitriani
NIM : 1313110041
Judul : Efektifitas Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)
terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara *in vitro*
Pembimbing II : Farach Khanifah. M.Si

No.	Tanggal	Hasil Konsultasi
1	11 Maret 2016	BAB I
2	26 April 2016	BAB II
3	26 April 2016	BAB III
4	02 Mei 2016	BAB III & IV
5	16 Mei 2016	I – IV acc
6	25 Mei 2016	BAB IV & Lampiran - Daftar pustaka diperbaiki - Remaserasi - Skema
7	23 Juni 2016	Revisi pembahasan
8	29 Juni 2016	Revisi BAB V & VI
9	22 Juli 2016	- Abstrak Revisi - BAB V & VI Acc
10	26 Juli 2016	Acc (dengan syarat)

Mengetahui,

Pembimbing II

Farach Khanifah M.Si

Lampiran 8

YAYASAN SAMODRA ILMU CENDEKIA
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
"INSAN CENDEKIA MEDIKA"



Website : www.stikesicme-jbg.ac.id

SK. MENDIKNAS NO.141/D/O/2005

No. : 051/KTI-D3 ANKES/K31/V/2016
Lamp. : -
Perihal : Penelitian

Jombang, 28 Mei 2016

Kepada :

Yth. Kaprodi D3 Analis Kesehatan STIKES ICME
Jombang
di
Tempat

Dengan hormat,

Dalam rangka kegiatan penyusunan Karya Tulis Ilmiah oleh mahasiswa Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan "Insan Cendekia Medika" Jombang program studi D3 Analis Kesehatan, maka sehubungan dengan hal tersebut kami mohon dengan hormat bantuan Bapak/Ibu untuk memberikan ijin melakukan Penelitian, kepada mahasiswa kami:

Nama Lengkap : **ANDITA FITRIANI**
No. Pokok Mahasiswa / NIM : 13 131 0041
Semester : VI (enam)
Judul Penelitian : *Efektifitas Ekstrak Daun Srikaya (Annua Squamosa L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus secara In Vitra*

Untuk mendapatkan data guna melengkapi penyusunan Karya Tulis Ilmiah sebagaimana tersebut diatas.

Demikian atas perhatian, bantuan dan kerjasamanya disampaikan terima kasih.

H. Bambang Tutuko, SH., S.Kep. Ns., MH
NIK: 01.06.054

Tembusan:

- Ka. Lab D3 Analis Kesehatan

Lampiran 9

JADWAL PELAKSANAAN PENELITIAN

NO	JADWAL	BULAN																											
		FEBRUARI				MARET				APRIL				MEI				JUNI				JULI				AGUSTUS			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Pembuatan Judul				■	■																							
2	Pembuatan BAB 1					■	■																						
3	Pembuatan BAB 2							■	■	■																			
4	Pembuatan BAB 3									■	■																		
5	Pembuatan BAB 4											■	■																
6	ACC Proposal KTI													■															
7	Seminar Proposal KTI														■														
8	Revisi Seminar Proposal KTI															■	■	■											
9	Pengumpulan Data/Penelitian																■	■											
10	Pengolahan Data																	■	■	■	■								
11	Penyusunan KTI																		■	■	■	■							
12	Sidang KTI																									■			
13	Revisi Sidang KTI																										■		

Keterangan :

- Kolom 1 – 4 pada bulan : minggu 1 – 4
- Blok warna hitam : waktu pelaksanaan kegiatan