

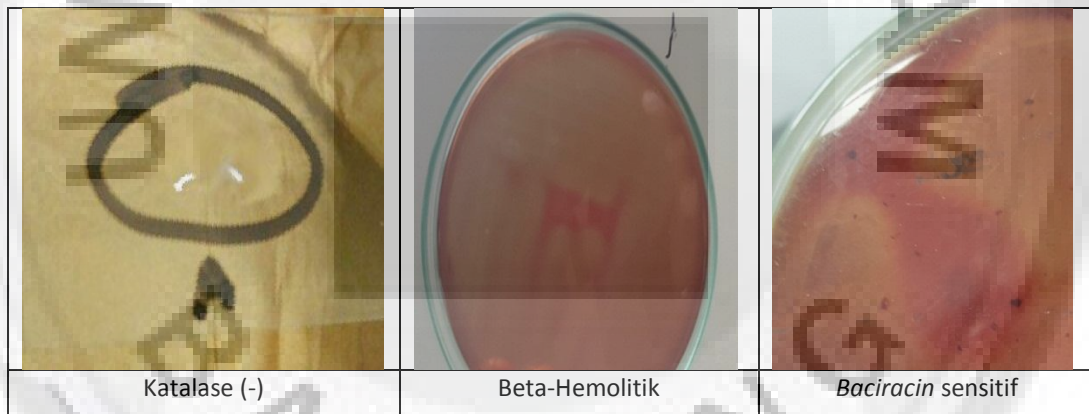
BAB IV

HASIL PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1. Uji Bakteri

Sebelum dilakukan uji efektivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata Linn*) bakteri *Streptococcus pyogenes* dilakukan uji biokimia yaitu tes katalase, tes beta-hemolitik, dan tes *bacitracin* untuk menentukan bahwa virulensi *Streptococcus pyogenes* masih berfungsi dengan baik. Hasil uji biokimia *Streptococcus pyogenes* dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Hasil Uji Biokimia *Streptococcus pyogenes*

Dari hasil diatas menunjukkan *Streptococcus pyogenes* menunjukkan hasil katalase negatif, memiliki efek hemolisis sempurna (beta-hemolisis) pada *blood agar*, dan sensitif terhadap *bacitracin*.

4.1.2. Uji Sensitivitas antibakteri

Uji efektivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata Linn*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro* yang

dilakukan adalah metode difusi agar *Kirby-Bauer*, metode *broth* mikrodilusi dengan konfirmasi *streak* pada *blood agar*, dan uji hemolisis *Streptococcus pyogenes* dalam *blood agar*.

4.1.3 Uji Zona Hambat Antibakteri

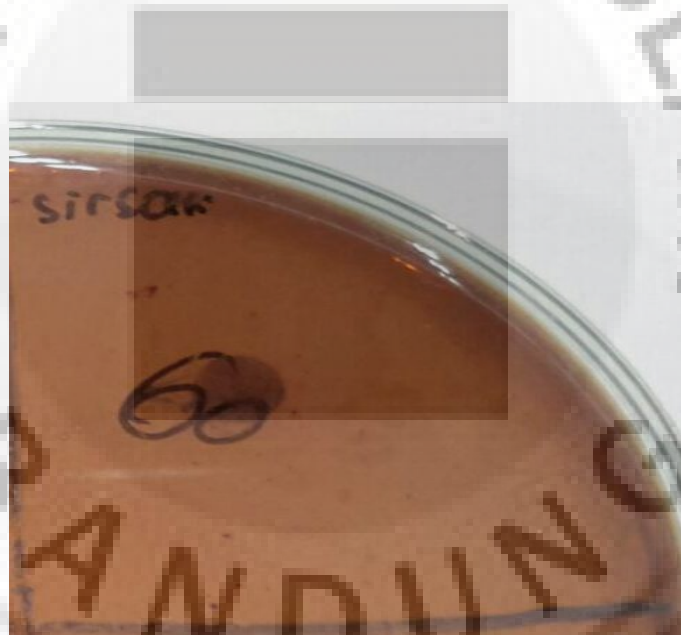
Percobaan penelitian dilakukan dengan empat kali pengulangan menggunakan metode difusi agar *Kirby-Bauer*. Konsentrasi fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata Linn*) yang digunakan adalah 20%, 40%, 60%, dan 80%. Kontrol positif yang digunakan yaitu dengan *Bacitracin disc* 10mg, dan *tween-80* sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian diukur dengan menggunakan alat ukur jangka sorong dalam satuan sentimeter. Gambar hasil uji difusi fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata Linn*) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% terhadap *Streptococcus pyogenes* dapat dilihat pada gambar 4.2–4.7



Gambar 4.2 Uji Difusi *Kirby-Bauer* yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 20%



Gambar 4.3 Uji Difusi Kirby-Bauer yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 40%



Gambar 4.4 Uji Difusi Kirby-Bauer yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 60%



Gambar 4.5 Uji Difusi Kirby-Bauer yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 80%



Gambar 4.6 Uji Difusi Kirby-Bauer yang diberikan kontrol positif (*Bacitracin* 10mg)



Gambar 4.7 Uji Difusi Kirby-Bauer yang diujikan sebagai kontrol negatif (tween-80)

Dari gambar 4.2–4.7 dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat daun sirsak tidak memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes*. Hasil pengukuran zona hambat dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Ukuran Zona Hambat Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksi Etil Asetat yang Berbeda Terhadap *Streptococcus pyogenes*

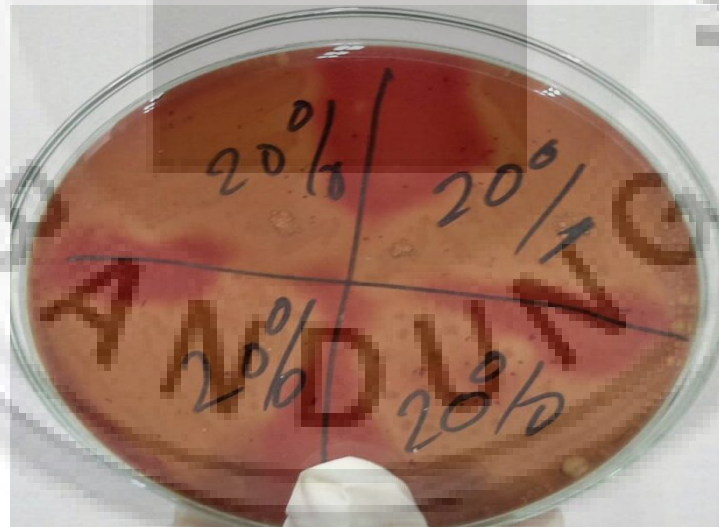
Pengulangan	Konsentrasi Perlakuan					Kontrol (+)
	0%	20%	40%	60%	80%	<i>Bacitracin</i>
Pengulangan 1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	2,0
Pengulangan 2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	2,0
Pengulangan 3	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	2,0
Pengulangan 4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	2,0
Rata-rata	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	2,0

Keterangan:

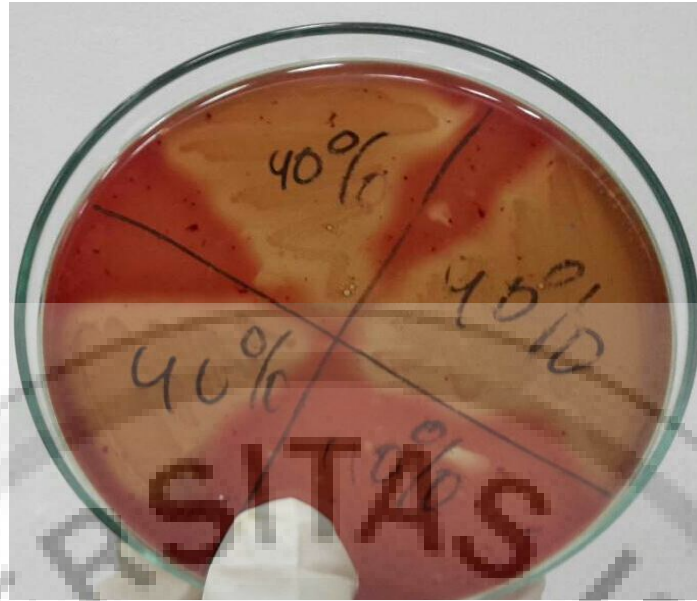
- a. Hasil pengukuran dihitung dalam satuan sentimeter

4.1.4 Uji Dilusi Antibakteri

Konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) dilakukan dengan menggunakan metode *broth* mikrodilusi dengan konfirmasi *streak* pada *blood agar*. Konsentrasi yang digunakan yaitu fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata Linn*) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%. Metode dilusi dilakukan dengan dua tahapan yaitu *broth* yang telah diberi perlakuan diinkubasi, kemudian dilihat kekeruhannya, dan tahap selanjutnya dikultur untuk melihat jumlah koloni. Gambar hasil metode dilusi untuk konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal oleh fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata Linn*) terhadap *Streptococcus pyogenes* gambar 4.8–4.11



Gambar 4.8 Uji Dilusi Broth yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 20%



Gambar 4.9 Uji Dilusi Broth yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 40%



Gambar 4.10 Uji Dilusi Broth yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 60%



Gambar 4.11 Uji Dilusi Broth yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 80%

Dari gambar 4.8–4.11 dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat daun sirsak tidak dapat menghambat dan membunuh *Streptococcus pyogenes*. Hasil pengukuran zona hambat dapat dilihat pada tabel 4.2 dan 4.3

Tabel 4.2 Hasil Uji Dilusi Broth Konsentrasi Hambat Minimal Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksi Etil Asetat yang Berbeda Terhadap *Streptococcus pyogenes*

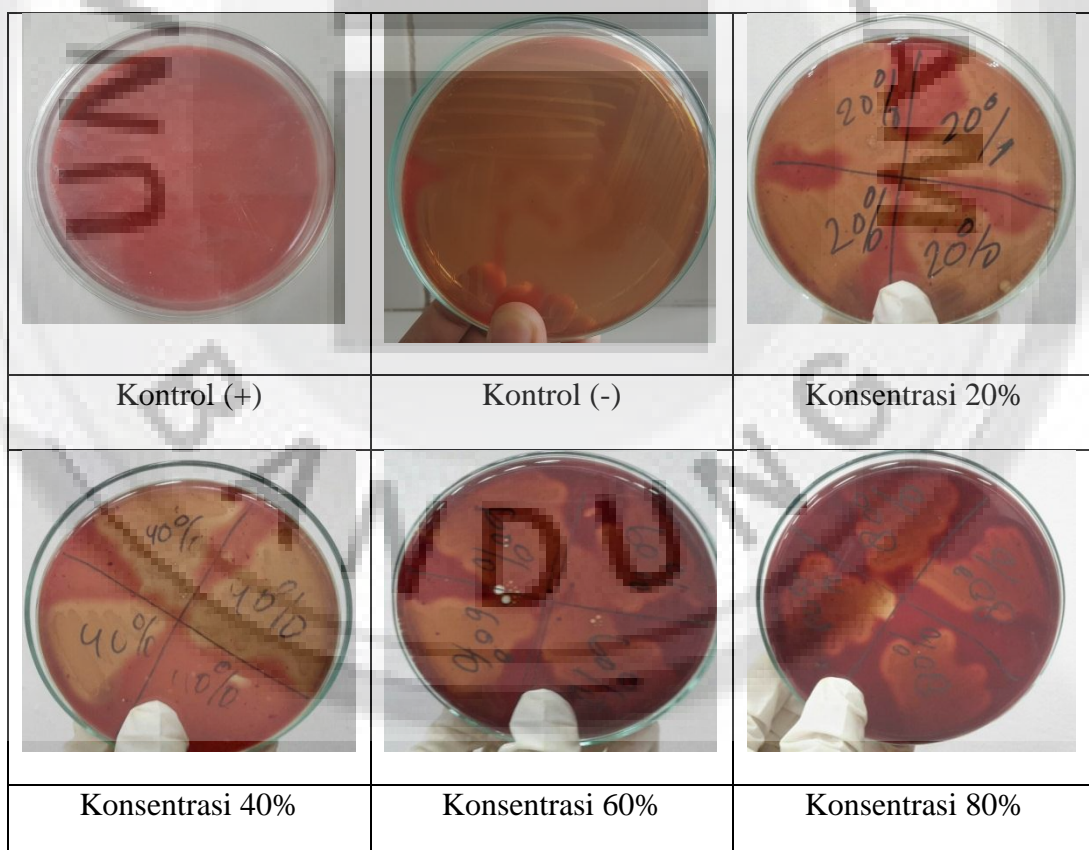
Metode dilusi	Konsentrasi Perlakuan			
	20%	40%	60%	80%
Hasil uji	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh

Tabel 4.3 Hasil Uji Dilusi Broth Bunuh Minimal Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksi Etil Asetat yang Berbeda Terhadap *Streptococcus pyogenes*

Metode dilusi	Konsentrasi Perlakuan			
	20%	40%	60%	80%
Hasil uji	Berkoloni	Berkoloni	Berkoloni	Berkoloni

4.1.5 Uji Hemolisis Antibakteri

Percobaan yang dilakukan pada penelitian ini dengan metode uji biokimia untuk melihat perubahan efek beta-hemolitik yang terjadi pada *Streptococcus pyogenes* setelah pemberian fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%. Kontrol negatif yang digunakan yaitu biakan *Streptococcus pyogenes* yang tidak diberikan fraksi etil asetat daun sirsak dan kontrol positif cawan petri yang berisi *TSA blood agar* tanpa ditumbuhkan bakteri. Hasil yang dilihat yaitu perbedaan perubahan warna media *TSA blood agar* yang terjadi akibat proses hemolitik oleh *Streptococcus pyogenes*. Gambar hasil uji biokimia dapat dilihat pada gambar 4.12



Gambar 4.12 Uji Hemolisis yang diberikan fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%

Dari gambar 4.11 dapat dilihat bahwa pada *blood agar* yang diberikan biakan *Streptococcus pyogenes* tanpa perlakuan menunjukkan efek hemolisis yang kuat. Pada *blood agar* yang diberikan biakan dengan perlakuan perlakuan 20%, 40%, 60%, dan 80% memperlihatkan adanya penurunan efek hemolisis *Streptococcus pyogenes*, hal ini dibuktikan dengan perubahan warna yang terjadi pada media *blood agar*.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil yang didapat dari penelitian efektivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata Lin*) terhadap *Streptococcus pyogenes* menunjukkan tidak adanya zona hambat yang dihasilkan. Belum adanya penelitian mengenai fraksi etil asetat daun sirsak dengan bakteri *Streptococcus pyogenes*, menyebabkan hasil penelitian ini tidak memiliki acuan apakah hasil penelitian sama atau berbeda dengan yang sebelumnya. Namun hasil berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Trupti *et al.* pada tahun 2014 mengenai sediaan lain daun sirsak yaitu ekstrak etanol menunjukkan adanya positif zona hambat yaitu 1,375 cm pada konsentrasi 50%.¹⁸ Perbedaan yang terjadi dikarenakan kandungan zat aktif yang ada pada ekstrak etanol daun sirsak dengan fraksi etil asetat daun sirsak. Ekstrak etanol daun sirsak memiliki kandungan zat aktif yaitu *annonaceous acetogenin*, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, quinon, steroid, dan triterpenoid.¹⁶ Penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti *et al.* pada tahun 2016 bahwa fraksi etil asetat daun sirsak memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, quinon, tanin, steroid, dan triterpenoid.¹⁶

Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki kandungan zat aktif saponin sementara fraksi etil asetat daun sirsak tidak

memiliki kandungan saponin.¹⁶ Menurut Arabski *et al.* pada tahun 2012 bahwa saponin memiliki efek antibakteri dengan merusak membran sel dan sitoskeleton yang dimiliki oleh bakteri dengan cara aktivasi laktat dehidrogenase yang bersifat toksik bagi bakteri dan inhibisi sitoaderen bakteri. Selain itu saponin juga memiliki sifat seperti deterjen sehingga memudahkan senyawa aktif ini dan yang lainnya menembus membran *lipid bilayer* yang dimiliki oleh bakteri.²⁸

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Adeyanju *et al.* pada tahun 2014 menyatakan bahwa *annonaceous acetogenin* yang dimiliki oleh daun sirsak memiliki efek antibakteri dengan cara mengganggu respirasi yang terjadi di mitokondria dengan menginhibisi reaksi yang terjadi pada kompleks 1. Efek lainnya yaitu dengan mengganggu fungsi dari mitokondria itu sendiri melalui *ubiquinin-link NADH oksidase*.¹⁷ Penelitian yang dikemukakan oleh Kumar *et al.* pada tahun 2013 tentang efek antibakteri dari flavonoid yaitu melalui mekanisme inaktivasi dari material *adhesin* yang ada pada bakteri, mengganggu aktivitas enzim yang dihasilkan bakteri, mengganggu transport protein yang ada pada bakteri, dan merusak membran sel bakteri dengan cara memisahkan seluruh ikatan hidrogen yang menyusun membran sel bakteri.²² Efek antibakteri dari senyawa aktif tanin yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun sirsak yang telah diteliti oleh Rendodo *et al.* pada tahun 2014 membuktikan bahwa tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginhibisi proses sintesis DNA pada bakteri.²⁴ Penelitian mengenai alkaloid sebagai efek antibakteri telah diteliti oleh Deng Yu *et al.* bahwa alkaloid memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram positif seperti grup *micrococcus*, dan *staphylococcus*, selain itu penelitian menurut Aniszweski *et al.* mengatakan bahwa alkaloid memiliki efek

antibakteri yang baik.^{25,26}

Hasil uji dilusi fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap *Streptococcus pyogenes* menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun sirsak tidak dapat menghambat pertumbuhan ataupun membunuh *Streptococcus pyogenes*. Hal ini terjadi akibat tidak adanya zona hambat pada percobaan metode difusi yang telah dilakukan. Sehingga hasil sesuai juga diperlihatkan pada metode dilusi bahwa masih terdapat kekeruhan pada *broth* dan koloni pada media agar.

Tidak adanya efek antibakteri pada penelitian ini dapat terjadi akibat tidak adanya komponen zat aktif saponin dalam fraksi etil asetat daun sirsak. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Thomas *et al.* pada tahun 2011 bahwa terdapat interaksi di antara kompleks zat aktif yang dimiliki oleh suatu tanaman, dimana setiap zat aktif akan bersinergi untuk merusak fungsi pertahanan biologis yang dimiliki oleh suatu mikroorganisme target.⁴¹ Hal tersebut didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Trupti *et al.* pada tahun 2014 yang membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes*, namun pada penelitian yang sama ekstrak air daun sirsak tidak memiliki efek antibakteri.¹⁸

Tidak hanya pada mekanisme zat aktif fraksi etil asetat daun sirsak, menurut penelitian yang dilakukan oleh Wei Liu *et al.* pada tahun 2015 terdapat faktor lain seperti pengaruh lokasi, cuaca, dan lingkungan tempat tanaman itu tumbuh terhadap kandungan zat aktif yang dimiliki tanaman tersebut.⁴² Selain itu terdapat faktor lain seperti metode pengolahan, konsentrasi dan kualitas senyawa zat aktif yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun sirsak tersebut, pH, kelembaban medium, dan jumlah nutrisi yang ada pada medium.^{43,44} Tidak

dilakukanya skrinning fitokimia secara kuantitatif menyebabkan tidak diketahui kadar zat aktif yang ada pada fraksi etil asetat daun sirsak.^{43,44}

Hasil uji biokimia fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Lin) terhadap *Streptococcus pyogenes* untuk menilai perubahan efek hemolisis yang terjadi menunjukkan adanya perbedaan efek hemolisis *Streptococcus pyogenes* yang terlihat pada biakan *blood agar*. Pada pemberian konsentrasi fraksi etil asetat yang lebih tinggi yaitu pada 80%, efek hemolisis yang terlihat pada *blood agar* sangat minimal, sedangkan pada pemberian konsentrasi 20% efek hemolisis pada *blood agar* bersifat kuat. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Shantoskhumar *et al.* pada tahun 2015 bahwa ekstrak daun sirsak memiliki efek antihemolisis dengan cara menghambat reaksi oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan membran eritrosit.⁴⁵ Selain itu kandungan steroid yang ada pada fraksi etil asetat daun sirsak bertindak sebagai *inhibitor non-selective* yang dapat menginhibisi aktivitas *streptolysin*, zat ini merupakan zat yang dapat memicu reaksi oksidatif sehingga menyebabkan kerusakan sel eritrosit.³⁰

4.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini mengalami beberapa hambatan dalam pelaksanaannya dikarenakan adanya kesulitan dan keterbatasan. Yang diantaranya :

- 1) Tidak dilakukanya uji fitokimia secara kuantitatif, sehingga tidak dapat melihat konsentrasi zat aktif yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun sirsak.
- 2) Tidak dilakukannya penggunaan pelarut ataupun medium lain dikarenakan keterbatasan biaya dan waktu.

- 3) Lokasi penelitian yang jauh membuat peneliti tidak dapat terlibat secara menyeluruh dalam proses penelitian.

