UJI EFEKTIFITAS PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN TUA SIRSAK(*Annona muricata L.)* TERHADAP DAYA HAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*

(Skripsi)

Oleh :
SATYA AGUSMANSYAH

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017

ABSTRAK

UJI EFEKTIFITAS PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN TUA SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP DAYA HAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*

Oleh:

SATYA AGUSMANSYAH

Latar Belakang: Obat antibiotik adalah obat yang penting dalam mengobati pasien dengan penyakit infeksi. Banyak penyakit infeksi yang memerlukan pengobatan dalam jangka panjang, yang menyebabkan semakin banyaknya resistensi terhadap obat antibiotik. Bakteri yang sudah banyak dilaporkan memiliki sifat resisten terhadap antibiotik adalah *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus.* Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun tua sirsak (*Annona muricata L)* sebagai alternatif antibakteri pada *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus.*

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak etanol daun tua sirsak yang dibagi dalam 7 kelompok. Kontrol negatif dengan aquadest (K1), konsentrasi 20% (K2), konsentrasi 40% (K3), konsentrasi 60% (K4), konsentrasi 80% (K5), konsentrasi 100% (K6), dan kontrol positif dengan seftriakson dan penisilin G (K7).

Hasil: Hasil penelitian ini menunjukkan rerata diameter zona hambat pada bakteri *Salmonella typhi* sebesar 21,29mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 21,58mm. Hasil analisis penelitian dengan menggunakan Uji *Independent T test* didapatkan nilai p=0,940 (nilai p >0,05) artinya tidak terdapat perbandingan yang bermakna.

Simpulan Penelitian: Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat daya hambat ekstrak etanol daun tua sirsak terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphyloccocus aureus,* dan secara statistik tidak terdapat perbandingan bermakna antara diameter zona hambat pada kedua bakteri

Kata Kunci: daun tua sirsak, diameter zona hambat, *Salmonella typhi*, *Staphyloccocus aureus*

ABSTRACT

EFFECTIVENESS TEST OF ETHANOL OLD LEAF SOURSOP (*Annona muricata L.*) EXTRACT TO THE INHIBITORY OF BACTERIAL GROWN of *Salmonella thypi* and *Staphylococcus aureus*

By:

SATYA AGUSMANSYAH

Background: Antibiotic is an important medication for infection disease. Many of infection diseases needs medication for long time,that cause more people are resistant for antibiotics. Bacteri whom report with antibiotic resistant are *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus.* This study intends to knowing the effectiveness of ethanol old leaf soursop (*Annona muricata L)* extracts as an alternative antibacterial for *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus.*

Methods: This research is an experimental research that used *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus* bacteria which given ethanol old leaf soursop extract that divided in 7 groups. Negative control uses aquadest (K1), 20 % concentration (K2), 40% concentration (K3), 60% concentration (K4), 80% concentration (K5), 100% concentration (K6), positve control uses ceftriaxon and penicilin G (K7).

Results: The results is showed the average diameter of inhibition zone on bacteria *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus* is 21,29mm and 21,58mm. Research analysis results using Independent T test obtained value p = 0.940 (p value >0.05) it means there is no significant comparison from the data.

Conclusion: There is a inhibitory force from ethanol old leaf soursop (*Annona muricata L)* extracts againts *Salmonella typhi* and *Staphyloccocus aureus,* in statistic perception there is no significant comparison of diameter inhibitory zone in both bacteria.

Key Words: Old soursop leaf, diameter inhibitory zone, *Salmonella typhi, Staphyloccocus aureus*

UJI EFEKTIFITAS PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN TUA SIRSAK(*Annona muricata L.)* TERHADAP DAYA HAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*

Oleh :

SATYA AGUSMANSYAH

Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada
Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017

Judul Skripsi : **UJI EFEKTIFITAS PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN TUA SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP DAYA HAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus***

Nama Mahasiswa : **Satya Agusmansyah**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1318011149

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

dr. M. Ricky Ramadhian, S.Ked, M. Sc
NIP 198306152008121001

dr. Syazili Musofa, S.Ked, M. Biomed
NIP 198307132008121003

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M. Kes., Sp. PA.
NIP 197012082001121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : dr. M. Ricky Ramadhian,S.Ked, M.Sc. .....

Sekretaris : dr. Syazili Mustofa,S.Ked, M.Biomed .....

Penguji

Bukan Pembimbing : dr.Tri Umiana Soleha,S.Ked, M. Kes .....

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M. Kes., Sp. PA.
NIP 197012082001121001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi:

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, 10 November 1995. Penulis merupakan anak keempat dari keluarga Dr. dr. M. Syafei Hamzah, SpKK dan Ibu Nyimas . G. Putri Agus. Penulis memiliki tiga kakak perempuan yang bernama dr. Soraya Saputri, dr. Sarlita Indah Permatasari dan dr. Sartika Nurfitriza.

Penulis mengikuti pendidikan di Taman Kanak-kanan (TK) Gadjah Mada. Pada tahun 2001, penulis menempuh pendidikan formal Sekolah Dasar di SDN 2 Rawa Laut (TELADAN) dan lulus pada tahun 2007. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 25 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2010. Selanjutnya, penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 2 Bandar Lampung.

Pada tahun 2013, penulis mengikut Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan akhirnya menempuh pendidikan sarjana di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sampai sekarang. Penulis tergabung dalam BEM Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan menjadi bagian dari biro KIK.

Dengan segala kerendahan diri dan rasa percaya diri, kupersembahkan karya ini untuk Papa, Mama, dan kakak-kakakku...

"KEAJAIBAN TERJADI HANYA KEPADA MEREKA
YANG TIDAK PERNAH MENYERAH"
_EMPORIO IVANKOV

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala kasih, karunia, dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Efektivitas Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Tua Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*".

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat masukan, bantuan, dorongan, saran, bimbingan dan kritik dari berbagai pihak. Maka dengan segenap kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- Orang tua saya Dr. dr. M. Syafei Hamzah, SpKK, FINSDV, FAADV dan Hj.Nyimas G. Putri Agus. yang teramat sangat saya cintai dan sayangi. Terimakasih tiada akhir atas doa, perhatian, semangat, kesabaran, kasih sayang, dan dukungan yang selalu mengalir setiap saat. Terimakasih sudah menjadi contoh dan kebanggaan serta perjuangannya memberikanku pendidikan yang terbaik, baik pendidikan akademis maupun nonakademis yang dapat digunakan untuk bekal masa depan;
- Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
- Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M. Kes., Sp. PA., selaku Dekan Fakultas Kedoketran Universitas Lampung;

- dr. M. Ricky Ramadhian, M. Sc., selaku Pembimbing 1 atas kesediaanya untuk meluangkan waktu, memberi nasihat, bimbingan, saran, dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
- dr. Syazili Mustofa, M. Biomed dan dr. Ade Yonata, , M. Mol Biol, Sp.PD., selaku Pembimbing II atas kesediaannya untuk meluangkan waktu, memberikan nasihat, bimbingan, saran, dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
- dr. Tri Umiana Soleha, M. Kes., selaku Penguji Utama pada Ujian Skripsi, terima kasih atas waktu, ilmu dan saran-saran yang telah banyak diberikan;
- dr. T A Larasati, M. Kes., Selaku Pembimbing Akademik atas nasihat, bimbingan, motivasi, saran dan kritik yang bermanfaat selama perkuliahan di Fakultas Kedokteran ini;
- dr. Putu Ristyaning Ayu Sangging, M.Kes., Sp.PK yang sudah seperti orang tua kedua di kampus selama 3,5 tahun ini. Semoga nasihat yang beliau berikan dapat saya tanamkan dalam diri saya sendiri.
- Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, dan bimbingan yang telah diberikan dalam proses perkuliahan. Terkhusus untuk Mbak Romi, Mbak Qori, Pak Sjahrudin, dan Pak Supangat yang telah sangat membantu, memberikan waktu dan tenaga serta kesabarannya selama dalam proses penyelesaian penelitian ini;

- Terimakasih kepada Kakak dr. Soraya Saputri, dr. Sarlita Indah Permatasari dan dr. Sartika Nurfitriza atas doa, dukungan, semangat, motivasi, kasih sayang yang telah diberikan selama ini;
- Seluruh keluarga besar ku yang tidak dapat disebutkan satu per satu atas dukungan, kasih sayang serta doa yang selalu menjadi alasan saya untuk merintis dan berjuang sampai saat ini;
- Terima kasih untuk teman Alumni SMA saya karena dapat terus saling menghibur, membantu dan melewatkan waktu luang bersama-sama.
- Sahabat "Geng Gabut" I Made Afryan S, Bisart Benedicto G, M. Hidayatullah SA, Rafian Novaldy yang telah memberikan semua waktu kosong yang ada untuk menemani dan bercanda tawa bersama.
- Sahabat serta sejawat "Skippers" Agus Fathul Muin, Fadel M. Ikrom, Fedelis Dani, Firza Syailendra, FuadIEP, Iqbal Reza Pahlavi, Made Agung Yudhistira, Marco Manza, Setiawan Prayogi, Tito Tri Saputra yang telah memberikan dukungan, motivasi, serta nasihat dan terimakasih juga sudah menjadi tempat berbagi dalam suka dan duka selama ini;
- Teman seperjuangan skripsi Benny BPP, Atika Threenesia, Romana Julia Terimakasih atas bantuan kalian yang sangat super sehingga penelitian ini dapat terselesaikan semoga kita bisa sukses kedepannya;
- Kelompok tutorial dari awal perkuliahan hingga akhir perkuliahan yang memberi semangat, tawa canda dan dukungan selama ini;
- Teman-teman sejawat angkatan 2013 yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terimakasih atas kebersamaan, keceriaan, kekompakan

kebahagiaan selama 3,5 tahun perkuliahan ini, semoga kelak kita bisa menjadi dokter yang amanah dan sukses dunia akhirat;

- Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan baru bagi pembacanya.

Bandar Lampung, Januari 2017

Penulis

Satya Agusmansyah

DAFTARISI

Halaman

DAFTAR ISI i
DAFTAR TABEL iv
DAFTAR GAMBAR v

BAB 1 PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan Penelitian 4
1.4 Manfaat Penelitian 5

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA
2.1. *Staphylococcus aureus* 6
2.1.1 Patogenitas Bakteri 7
2.1.2 Klasifikasi Bakteri 8
2.1.3 Manifestasi Klinis 9
2.1.4 Pengobatan 10

2.2 *Salmonella typhi* 10
2.2.1 Patogenitas Bakteri 11
2.2.2 Manifestasi Klinis 13
2.2.3 Klasifikasi Bakteri 14
2.2.4 Pengobatan 16

2.3 Daun Sirsak (*Annona muricata L)* 16

2.4 Antibiotik 18

2.4 Kerangka Penelitian 20
2.5.1 Kerangka Teori 20
2.5.2 Kerangka Konsep 22

2.6 Hipotesis 22
2.6.1 Hipotesis Nol 22

2.6.2 Hipotesis Alternatif 22

BAB 3 METODE PENELITIAN
3.1 Desain Penelitian 23

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian 23
3.2.1 Tempat Penelitian 23
3.2.3 Waktu Penelitian 24

3.3 Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian 24
3.3.1 Mikroba Uji Penelitian 24
3.3.2 Bahan Uji Penelitian 24
3.3.3 Media Kultur 24

3.4 Identifikasi Variabel 25
3.4.1 Variabel Independen 25
3.4.2 Variabel Dependen 25

3.5 Definisi Operasional 26

3.6 Besar Sampel 26
3.6.1 Kelompok Perlakuan 28
3.6.2 Diagram Alur Penelitian 29

3.7 Prosedur Penelitian 30
3.7.1 Persiapan 30
3.7.1.1 Alat Penelitian 30
3.7.1.2 Bahan Penelitian 31

3.7.2Sterilisasi Alat 31
3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak 31
3.7.4 Identifikasi Bakteri Uji 32
3.7.5 Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan *McFarland* 33
3.7.6 Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri 34
3.7.7 Teknik Pembuatan Media Agar MHA (*Muller Hinton Agar)* 34
3.7.8 Uji Diameter Zona Hambat *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan Metode Sumuran 35

3.8 Pengolahan dan Analisis Data 36
3.8.1 Pengolahan Data 36
3.8.2 Analisis Data 37
3.8.2.1 Analisis Univariat 37
3.8.2.2 Analisis Bivariat 37
3.9*Ethical Clearance* 38

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN. 39
4.1 Hasil Penelitian 39
4.1.1 Hasil Isolasi dan Pewarnaan Gram Bakteri Uji 39
4.1.2 Hasil Uji Biokimiawi Bakteri Uji 39
4.1.3 Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun tua Sirsak 40

4.2 Hasil Analisis Data 42
4.2.1 Analisis Deskriptif Perbandingan Zona Hambat Pada *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* 42
4.2.2 Analisis Univariat 42
4.2.3 Analisis Bivariat 43

4.3 Pembahasan 47

BAB V SIMPULAN DAN SARAN 52
5.1 Kesimpulan 52
5.2 Saran 53

DAFTAR PUSTAKA 54

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. *Staphylococcus aureus* 8

2. *Salmonela typhi* 10

3. Pohon, Buah dan Daun Sirsak (*Annona muricata L)* 17

4. Kerangka Teori 21

5. Kerangka Konsep 22

6. Alur Penelitian 29

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Definisi Operasional Variabel 26

2. Kelompok Perlakuan 28

3. Hasil Isolasi dan Pewarnaan Gram Bakeri Uji 39

4. Hasil Uji Biokimiawi Bakteri Uji 40

5. Diameter Zona Hambat *Salmonella typhi* 41

6. Diameter Zona Hambat *Staphylococcus aureus* 41

7. Rata- rata diameter zona hambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* 41

8. Hasil Uji Analisis Univariat 43

9. Uji Normalitas 44

10. Hasil Uji Homogenitas 44

11. Uji *One-way Anova* 45

12. Hasil Uji *Post hoc Bonferroni* Diameter Zona Hambat *Salmonella typhi* 46

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obat antibiotik adalah obat yang penting dalam mengobati pasien dengan penyakit infeksi. Telah terjadi perubahan pada sistem praktik kesehatan, banyak pasien penyakit infeksi yang memerlukan perawatan dalam waktu yang cukup lama. Oleh karena itu, pajanan antibiotik oral dan antibiotik parenteral terhadap pasien tersebut semakin banyak. Masalah ini membuat munculnya mikroba patogen yang resisten terhadap antibiotik (Mardiastuti, 2007).

Salah satu bakteri patogen yang sering resisten terhadap antibiotik ialah bakteri *Salmonella typhi. Salmonella typhi* merupakan kuman pathogen penyebab demam tifoid, yaitu suatu penyakit infeksi sistemik dengan gambaran demam yang berlangsung lama, adanya bakteremia disertai inflamasi yang dapat merusak usus dan organ-organ hati, biasanya bakteri ini adalah penyebab utama demam tifoid.*Salmonella typhi* merupakan bakteri batang gram-negatif. Karena habitat aslinya yang berada di dalam usus manusia maupun binatang, bakteri ini dikelompokkan ke dalam *Enterobacteriaceae* (Brooks,

2008).Angka kejadian demam tifoid di Indonesia pada tahun 1990 sebesar 9,2% dan pada tahun 1994 terjadi peningkatan frekuensi menjadi 15,4% per 10.000 penduduk. Prevalensi demam tifoid berdasarkan data Riskesdas 2007 adalah 1,60% (Riskedas, 2007).

Bakteri lain yang sudah resisten antibiotik adalah *Staphylococcus aureus.* Bakteri ini adalah salah satu bakteri gram positif berbentuk bulat yang merupakan bakteri patogen bagi manusia yang juga merupakan . Infeksi *Staphylococcus aureus*dapat menginfeksi setiap jaringan ataupun alat tubuh dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda khas berupa peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Septiari, 2012). Umumnya *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit yang bersifat sporadik (Inayatullah, 2012).Bakteri genus *Staphylococcus* bersifat cepat menjadi resisten terhadap banyak banyak obat antimikroba dan menyebabkan masalah terapi yang sulit (Brook, 2008)

Semakin tingginya resistensi antibiotik ini adalah salah satu penghambat utama dalam tercapainya hasil pengobatan yang sukses dan pengontrolan terhadap patogenitas mikroba (Fu*et al.*, 2007). Antibiotik juga dikenal banyak memiliki efek samping yang membuat tidak nyaman, misalnya mual, lemas, sakit kepala, dan lainnya (Rangan, 2009). Berkembangnya resistensi obat serta meningkatnya keinginan konsumen terhadap obat-obatan dengan efek samping minimal

memaksa kita untuk mengembangkan agen antimikroba baru (Gull, 2012). Untuk mengatasi masalah ini adalah salah satunya dengan mengambil jalan alternatif yaitu menggunakan obat-obatan alami berbahan dasar tumbuhan atau yang biasa disebut obat herbal (Ansari, 2005). Obat herbal telah digunakan secara tradisional pada negara dengan akses pelayanan kesehatan formal yang terbatas (Depkes RI, 2007). Salah satu pengobatan tradisional herbal yg digunakan adalah daun sirsak (*Annona muricata L.).*

Secara empiris buah atau daun *Annona muricata* dapat mengatasi beragam penyakit. Pada tahun 2010, ternyata buah sirsak dapat mengobati disentri, empedu akut, dan kencing batu. Daunnya dapat mengatasi luka borok, bisul, kejang, jerawat, dan kutu rambut. Manfaat tanaman sirsak terbukti mempunyai khasiat astrigen (daun dan buah mentah), antibakteri, dan antikejang (Hariana, 2006).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati *et al* 2014 Bioaktivitas Ekstrak metanol Daun Tua Sirsak *Annona Muricata L*. Sebagai antibakteri terhadap *Propionibacterium acne* dengan hasil berpotensi sebagai antibakteri terhadap dan *Propionibacterium acnes*, sang peneliti akan membahas tentang uji efektivitas pengaruh ekstrak etanol daun tua sirsak (*Annona muricata L*.) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri*Staphylococcus aureus*dan*Salmonella thypi”*

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun tua sirsak(*Annona muricata L.)* efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Apakah terdapat perbedaan tiap diameter zona hambat pada pada bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada pemberian ekstrak etanol daun tua sirsak (*Annona muricata L)*
3. Berapa konsentrasi ekstrak daun tua sirsak (*Annona muricata L.)* yang menghasilkan zona hambat yang paling besar pada *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus?*

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun tua sirsak(*Annona muricata L.)* pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan*Salmonella typhi*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui apakah ada perbedaan diameter zona hambat *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada pemberian ekstrak etanol daun tua sirsak(*Annona muricata L.).*
2. Mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang efektif terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan*Salmonella typhi*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

1. Memberikan informasi ilmiah kepada peneliti mengenai efektivitas ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.)*terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan*Salmonella typhi*
2. Memberikan informasi informasi awal sebagai landasan untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Bagi Institusi

Memberikan informasi awal kepada masyarakat khususnya tenaga kesehatan mengenai tanaman herbal.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (S. aureus) merupakan nama spesies yang merupakan bagian dari genus *Staphylococcus*. Bakteri ini pertama kali diamati oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti secara lebih terinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* diberikan oleh Ogston karena bakteri ini, pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur, sedangkan nama spesies aureus diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan (Jawetz et al, 2010).

Rosenbach juga mengungkapkan bahwa *S. aureus* merupakan penyebab infeksi pada luka dan furunkel. Sejak itu *S. aureus* dikenal secara luas sebagai penyebab infeksi pada pasien pascabedah dan pneumonia terutama pada musim dingin/hujan. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 ^{o}C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu ruangan yang berkisar antara 20-25 ^{o}C). Koloni bakteri ini berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bulat, menonjol, halus dan berkilau (Jawetz et al, 2010).

2.1.1 Patogenitas Bakteri

Kemampuan *Staphylococcus aureus* menimbulkan penyakit ditentukan kemampuannya menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung dan kemampuan untuk tumbuh serta menghindari sistem imun dari *host*. *S. aureus* biasanya ditemukan di kulit dan di hidung manusia dan dapat menyebabkan infeksi dan sakit parah. Bakteri ini juga menyebabkan intoksitasi dan terjadinya berbagai macam infeksi seperti jerawat, bisul, juga pneumonia, endokarditis. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah, dan yang paling sering ditemukan adalah furunkel pada kulit dan impetigo(Wright *et al*, 2003).

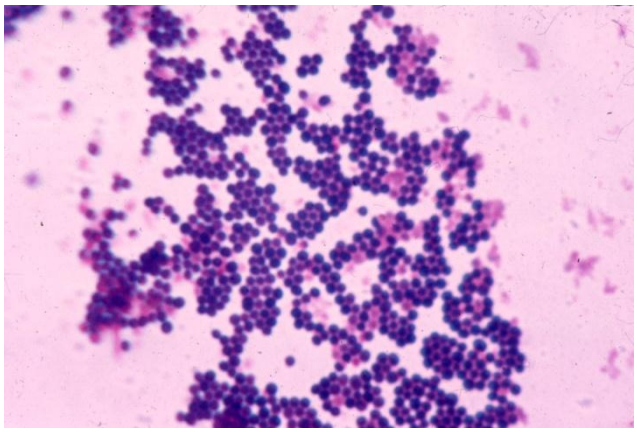
Infeksi pada daerah superfisial dapat menyebar ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomielitis, artritis, endokarditis, dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar mammae. *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan pneumonia yang merupakan infeksi sekunder dari virus influenza. *Staphylococcus aureus* paling sering mengkontaminasi luka pascabedah sehingga menimbulkan komplikasi(Wright *et al*, 2003).

S.aureus merupakan contoh patogen yang mudah beradapatasi. Hal ini diperlihatkan dengan kemampuan dari bakteri ini untuk mengkoloni dan mengambil atau mentransfer materi genetik yang membawa berbagai faktor patogenitas. Faktor patogenitas*S. aureus* ada dua yaitu *surface associated factor* dan *secreted factor*. *Surface associated factor* adalah faktor yang bertanggung jawab dalam pengenalan reseptor,

perlekatan dan penghindaran dari sistem imun. Sedangkan untuk *secreted factor* yang dapat berinteraksi dengan zat/substansi milik host dan menyebabkan kerusakan jaringan (Wright *et al*, 2003).

2.1.2 Klasifikasi bakteri*Staphylococcus aureus* dalam mikrobiologi (Hill, 1981) :

Kingdom	*:*	Eubacteria
Phylum	*:*	Firmicutes
Class	*:*	Coccus
Order	*:*	Bacillales
Family	*:*	Staphylococcaceae
Genus	*:*	Staphylococcus
Species	*:*	*S. aureus*
Nama Binomial	:	*Staphylococcus aureus*



Gambar 1. *Staphylococcus aureus*Perbesaran 1000x (Kusuma, 2009)

2.1.3. Manifestasi Klinis

Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebasea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru (Jawetz et al, 2010).

Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *Staphylococcus aureus*. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/gr makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam. Sindroma syok toksik (SST) pada infeksi *Staphylococcus aureus* timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi, dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. SST sering terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, atau pada anak- anak dan pria dengan luka yang terinfeksi stafilokokus. S. aureus dapat diisolasi dari vagina, tampon,

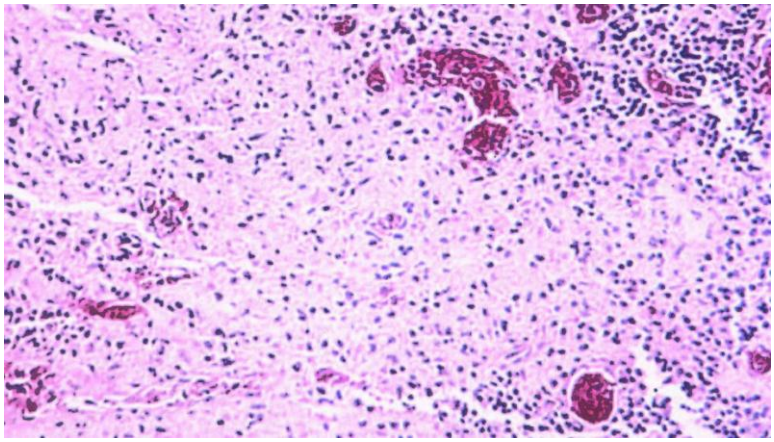
luka atau infeksi lokal lainnya, tetapi praktis tidak ditemukan dalam aliran darah (Jawetz et al, 2010).

2.1.4 Pengobatan

*Staphylococcus aureus*dapat diobati dengan menggunakan antibiotik lini pertama seperti ampisilin. Pada infeksi yang cukup berat seperti sindroma renjatan toksis, diberikan antibiotik oral atau intravena seperti penisilin, matisilin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rifampisin. Sebagian besar *Staphylococcus aureus*sudah resisten pada antibiotik yang disebutkan tadi, oleh karena itu perlu diberikan antibiotik berspektrum luas seperti kloramfenikol, amoksilin, dan tetrasiklin. (Miller dan Kaplan, 2009).

2.2 Salmonella typhi

Salmonella merupakan bakteri batang gram-negatif, karena habitat aslinya yang berada di dalam usus manusia maupun binatang, bakteri ini dikelompokkan ke dalam enterobacteriaceae (Brooks, 2008).



Gambar 2.*Salmonella typhi* perbesaraan 1000x (Cita, 2011)

2.2.1 Patogenitas Bakteri

Salmonella typhi yang menginfeksi manusia dan menyebabkan demam enterik yaitu demam tifoid. Jumlah organisme dalam makanan dan minuman yang terkontaminasi menentukan *infection rate.* Antigen Vi dan serotip *S. typhi* merupakan bentuk antigen K. Sejumlah penelitian menunjukan bahwa Vi mempunyai sifat antiospsonik dan antifagositik, mengurangi sekresi TNFα terhadap *S. enterica* ser. *typhi.* oleh makrofag inang, meningkatkan resistensi bakteri terhadap *oxidative killing* (Winn, 2005).

Seperti halnya semua bakteri basil enterik, *S. typhi* juga menghasilkan endotoksin. Endotoksin merupakan senyawa lipopolisakarida (LPS) yang dihasilkan dari lisisnya sel bakteri. Di peradaran darah, endotoksin ini akan berikatan dengan protein tertentu kemudian berinteraksi dengan reseptor yang ada pada makrofag dan monosit serta sel-sel RES, maka akan dihasilkan IL-1, TNF, dan sitokin lainnya. Selain itu, *S. typhi* juga menghasilkan sitotoksin, namun hanya sedikit sekali (Dzen, 2003)

Salmonella yang terbawa melalui makanan ataupun benda lainnya akan memasuki saluran cerna. Di lambung, bakteri ini akan dimusnahkan oleh asam lambung, namun yang lolos akan masuk ke usus halus. Bakteri ini akan melakukan penetrasi pada mukosa baik usus halus maupun usus besar dan tinggal secara intraseluler dimana mereka akan berproliferasi. Ketika bakteri ini mencapai epitel dan IgA tidak bisa menanganinya, maka akan terjadi degenerasi *brush border*. Kemudian,

di dalam sel bakteri akan dikelilingi oleh *inverted cytoplasmic membrane* mirip dengan vakuola fagositik (Dzen, 2003).

Setelah melewati epitel, bakteri akan memasuki lamina propria. Bakteri dapat juga melakukan penetrasi melalui *intercellular junction*. Dapat dimungkinkan munculnya ulserasi pada folikel limfoid (Singh, 2001). *Salmonella typhi* dapat menginvasi sel M dan sel enterosit tanpa ada predileksi terhadap tipe sel tertentu (Singh, 2001).

Evolusi dari *S. typhi* sangat tidak terduga. *S. typhi* berpfoliferasi di *Peyer's patch* dari usus halus, kemudian sel mengalami destruksi sehingga bakteri akan dapat menyebar ke hati, limpa, dan sistem retikuloendotelial. Dalam satu sampai tiga minggu bakteri akan menyebar ke organ tersebut. Bakteri ini akan menginfeksi empedu, kemudian jaringan limfoid dari usus halus, terutamanya ileum. Invasi bakteri ke mukosa akan memicu sel epitel untuk menghasilkan berbagai sitokin seperti IL-1, IL-6, IL-8, TNF-β, INF, GM-CSF (Singh, 2001).

Keadaan patologi di Payer patch akibat *S. typhi* menjadi 4 fase sebagai berikut:

1. Fase 1 : hiperplasia dari folikel limfoid.
2. Fase 2 : nekrosis dari folikel limfoid pada minggu kedua yang mempengaruhi mukosa dan submukosa.
3. Fase 3 : ulserasi sepanjang usus yang memungkinkan terjadinya perforasi dan perdarahan.

4. Fase 4 : penyembuhan mungkin terjadi pada minggu keempat dan tidak terbentuk striktur.

2.2.2 Manifestasi Klinis

Demam tifoid merupakan penyakit sistemik yang ditandai dengan demam dan nyeri abdomen dan muncul akibat infeksi *S. typhi* dan *S. paratyphi*. Gejala klinis demam tifoid bervariasi dari asimtomatik, ringan, berat, bahkan sampai menyebabkan kematian. Masa inkubasi S. typhi berkisar 3-21 hari dimana durasinya merefleksikan ukuran inokulum dan kesehatan serta status imun inang yang terinfeksi. Gejala klinis yang umum adalah demam yang panjang (38,8˚-40,5˚C). Demam ini dapat berkelanjutan selama empat minggu jika tidak segera ditangani. Keluhan nyeri abdomen hanya berkisar 30-40% dari penderita yang menderita demam tifoid (Fauci, 2008).

Pada minggu pertama, keluhan yang dapat muncul sangat umum, seperti demam, nyeri kepala, pusing, nyeri otot, anoreksia, mual, muntah, obstipasi atau diare, perasaan tidak enak pada perut, batuk, dan epistaksis. Jika dilakukan pemeriksaan fisik, hanya dapat ditemukan suhu tubuh yang meningkat. Di minggu kedua gejala mulai lebih menonjol, yakni demam, bradikardi relatif, lidah yang berselaput, hepatomegali, splenomegali, meteorismus, gangguan mental berupa somnolen, stupor, koma, delirium, atau psikosis (Sudoyo, 2006).

Berdasarkan investigasi dari CDC diperkirakan 21,6 juta kasus demam thypoid dengan insiden bervariasi dari 100-1000 per 100.000 populasi. Data World Health Organization (WHO) tahun 2003 memperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun. Di negara berkembang, kasus demam tifoid dilaporkan sebagai penyakit endemis dimana 95% merupakan kasus rawat jalan sehingga insidensi yang sebenarnya adalah 15-25 kali lebih besar dari laporan rawat inap di rumah sakit (Sucipta, 2015).

Di Indonesia kasus ini tersebar secara merata di seluruh propinsi dengan insidensi di daerah pedesaan 358/100.000 penduduk/tahun dan di daerah perkotaan 760/100.000 penduduk/ tahun atau sekitar 600.000 dan 1.5 juta kasus per tahun. Umur penderita yang terkena di Indonesia dilaporkan antara 3-19 tahun pada 91% kasus (Sucipta, 2015).

2.2.3 Klasifikasi Bakteri

Klasifikasi *Salmonella* terbentuk berdasarkan dasar epidemiologi, jenis inang, reaksi biokimia, dan struktur antigen O, H, V ataupun K. Antigen yang paling umum digunakan untuk Salmonella adalah antigen O dan H. Antigen O, berasal dari bahasa Jerman (Ohne), merupakan susunan senyawa lipopolisakarida (LPS). LPS mempunyai tiga region, region I merupakan antigen O-spesifik atau antigen dinding sel. Antigen ini terdiri dari unit-unit oligosakarida yang terdiri dari tiga sampai empat monosakarida. Polimer ini biasanya berbeda antara satu

isolat dengan isolat lainnya, itulah sebabnya antigen ini dapat digunakan untuk menentukan subgrup secara serologis.

Region II merupakan bagian yang melekat pada antigen O, merupakan *core polysaccharide* yang konstan pada genus tertentu. Region III adalah lipid A yang melekat pada region II dengan ikatan dari 2-keto-3-deoksioktonat (KDO). Lipid A ini memiliki unit dasar yang merupakan disakarida yang menempel pada lima atau enam asam lemak. Bisa dikatakan lipid A melekatkan LPS ke lapisan murein-lipoprotein dinding sel (Dzen, 2003)

Antigen H merupakan antigen yang terdapat pada flagela dari bakteri ini, yang disebut juga flagelin. Antigen H adalah protein yang dapat dihilangkan dengan pemanasan atau dengan menggunakan alkohol. Antibodi untuk antigen ini terutamanya adalah IgG yang dapat memunculkan reaksi aglutinasi. Antigen ini memiliki *phase variation*, yaitu perubahan fase salam satu serotip tunggal. Saat serotip mengekspresikan antigen H fase-1, antigen H fase-2 sedang disintesis (Brooks, 2008)

Antigen K berasal dari bahasa Jerman, *kapsel*. Antigen K merupakan antigen kapsul polisakarida dari bakteri *enteric* (Dzen, 2003). Antigen ini mempunyai berbagai bentuk sesuai genus dari bakterinya. Pada salmonella, antigen K dikenal juga sebagai *virulence antigen*. *S. typhi* merupakan bakteri batang gram negatif dan tidak membentuk spora, serta memiliki kapsul. Bakteri ini juga bersifat fakultatif, dan sering disebut sebagai *facultative intra-cellular parasites*. Dinding selnya

terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS) dan tersusun sebagai lapisan-lapisan (Dzen, 2003).

2.2.3 Pengobatan

Kloramfenikol adalah antibiotik pilihan yang tepat untuk mengobati septikemia, tetapi telah menghasilkan strain-strain yang resisten, oleh karena itu uji kepekaan antibiotik perlu dilakukan(Nelwan,2012). Ampisilin dan trimetropin sulfametoxazole kini digunakan. Untuk gastroenteritis, yang paling penting dilakukan ialah penggantian cairan dan elektrolit yang hilang (Poeloengan, 2010).

2.3 Daun Sirsak (*Annona muricata L.)*

Sirsak merupakan tanaman dengan berbagai macam manfaat bagi kesehatan baik daging buah, daun maupun bijinya memiliki kandungan kimia yang bermanfaat untuk pengobatan. Daun sirsak mengandung senyawa tanin, fitosterol, flavonoid, alkaloid, saponin serta asetogenin. Senyawa yang terdapat pada daun sirsak tersebut dapat digunakan untuk mengobati sakit kepala, insomnia, penyakit hati, diabetes, hipertensi, diare, serta disentri (Rusmiyati *et al,* 2014).

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari tumbuhan sirsak adalah:(Sunarjono, 2005).

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Polycarpiceae

Familia : Annonaceae

Genus : Annona

Spesies : *Annona muricata L.*

Gambar 3. Pohon, buah dan daun sirsak (*Annona Muricata L.)*
(Moghadamtousi *et al*, 2015)

Morfologi dari daun sirsak adalah berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. Terdapat banyak putik di dalam satu bunga sehingga diberi nama bunga berpistil majemuk. Sebagian bunga terdapat dalam lingkaran, dan sebagian lagi membentuk spiral atau terpencar, tersusun secara hemisiklis. Mahkota bunga yang berjumlah 6 sepalum yang terdiri dari dua lingkaran, bentuknya hampir segitiga, tebal, dan kaku, berwarna kuning keputih-putiham, dan setelah tua mekar dan lepas dari dasar bunganya. Bunga umumnya keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon bentuknya sempurna (Sunarjono, 2005).

Daun sirsak mengandung alkaloid, tanin, dan beberapa kandungan kimia lainnya termasuk *Annonaceous acetogenins*. Asetogenin merupakan senyawa yang memiliki potensi sitotoksik. Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang dapat bersifat toksik untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Mardiana, 2011). Acetogenins merupakan inhibitor kuat dari kompleks I mitokondria atau NADH dehidrogenase. Zat ini akan mengakibatkan penurunan produksi ATP yang akan menyebabkan kematian sel kanker, lalu kemudian memicu terjadinya aktivasi jalur apoptosis serta mengaktifkan p53 yang dapat menghentikan siklus sel untuk mencegah terjadinya proliferasi tak terkendali (Retnani, 2011).

Menurut peneliti daun sirsak dari Institut Teknologi Bandung, Prof. Soelaksono Sastrodiharjo PhD, dijelaskan bahwa kandungan asetogenin pada daun sirsak dapat dimanfaatkan untuk mengobati infeksi pada kulit yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Propionibacterium acnes* (Hambali *et al*., 2012)

2.4 Antibiotik

Antibiotika adalah zat-zat kimia oleh yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan ataumenghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Turunan zat-zat ini, yang dibuat secara semi-sintesis, juga termasuk kelompok ini, begitu pula senyawa sintesis dengan khasiat antibakteri (Tjay & Rahardja, 2007).

Antibiotik adalah zat biokimia yang diproduksi oleh mikroorganisme, yang dalam jumlah kecil dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme lain (Harmita dan Radji, 2008).

Penggolongan antibiotik secara umum adalah sebagai berikut:

1) Berdasarkan struktur kimia antibiotik (Tjay & Rahardja, 2007)
   a) Golongan Beta-Laktam, antara lain golongan sefalosporin (sefaleksin, sefazolin, sefuroksim, sefadroksil, seftazidim), golongan monosiklik, dan golongan penisilin (penisilin, amoksisilin). Penisilin adalah suatu agen antibakterial alami yang dihasilkan dari jamur jenis *Penicillium chrysognum*.
   b) Antibiotik golongan aminoglikosida, aminoglikosida dihasilkan oleh jenis-jenis fungi Streptomyces dan Mikromonospora. Semua senyawa dan turunan semi-sintesisnya mengandung dua atau tiga gula-amino di dalam molekulnya, yang saling terikat secara glukosidis. Spektrum kerjanya luas dan meliputi terutama banyak bacilli gram-negatif. Obat ini juga aktif terhadap gonococci dan sejumlah kuman gram-positif. Aktifitasnya adalah bakterisid, berdasarkan dayanya untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom di dalam sel. Contohnya streptomisin, gentamisin, amikasin, neomisin, dan paranomisin.
   c) Antibiotik golongan tetrasiklin, khasiatnya bersifat bakteriostatis, hanya melalui injeksi intravena dapat dicapai kadar plasma yang bakterisid lemah. Mekanisme kerjanya berdasarkan diganggunya sintesa protein bakteri. Spektrum antibakterinya luas dan meliputi banyak cocci gram

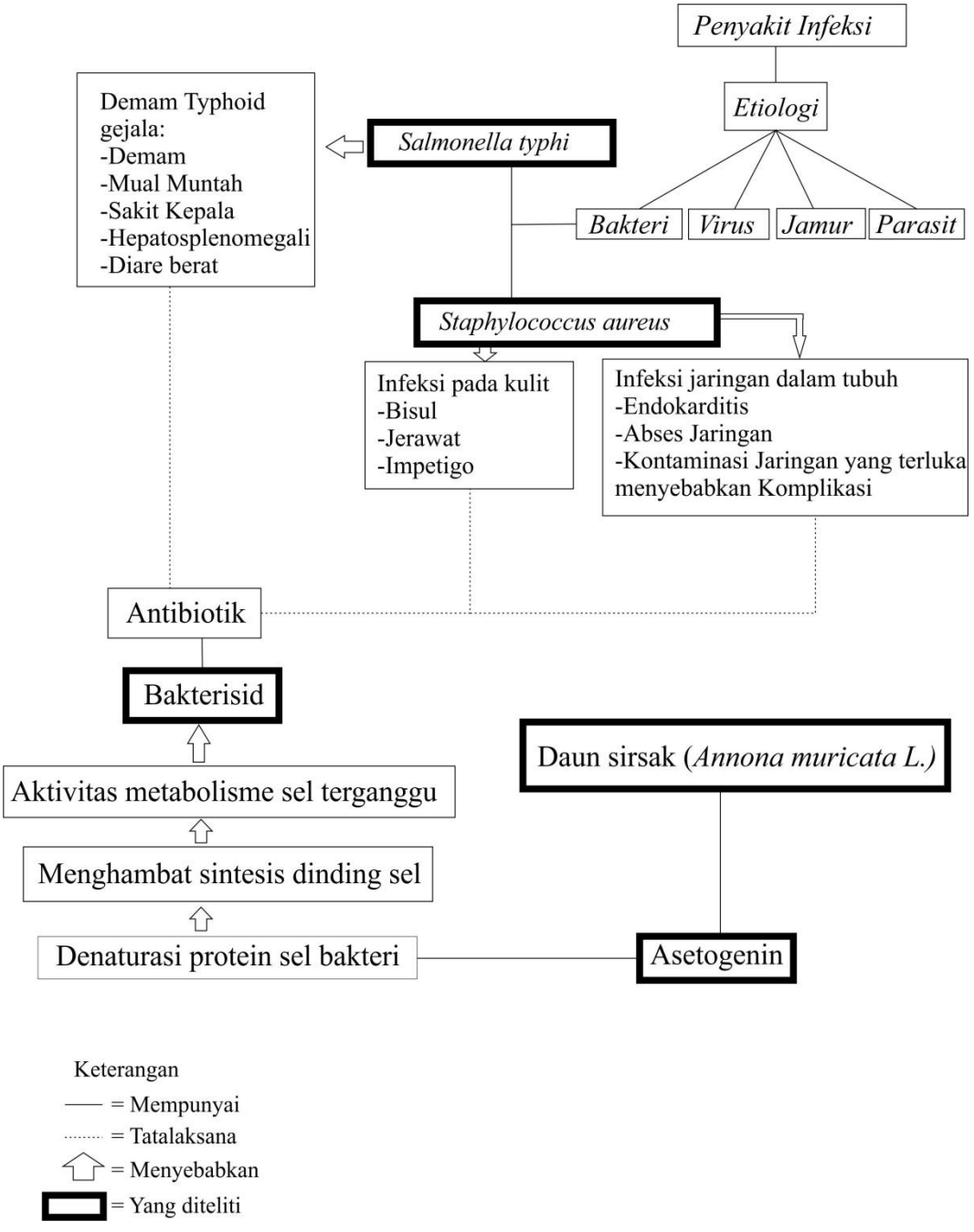
positif dan gram negatif serta kebanyakan bacilli. Tidak efektif Pseudomonas dan Proteus, tetapi aktif terhadap mikroba khusus *Chlamydia trachomatis* (penyebab penyakit mata trakoma dan penyakit kelamin), dan beberapa protozoa (amuba) lainnya. Contohnya tetrasiklin, doksisiklin, dan monosiklin.

d) Antibiotik golongan makrolida, bekerja bakteriostatis terhadap terutama bakteri gram-positif dan spektrum kerjanya mirip Penisilin-G. Mekanisme kerjanya melalui pengikatan reversibel pada ribosom kuman, sehingga sintesa proteinnya dirintangi. Bila digunakan terlalu lama atau sering dapat menyebabkan resistensi. Absorbsinya tidak teratur, agak sering menimbulkan efek samping lambung-usus, dan waktu paruhnya singkat, maka perlu ditakarkan sampai 4x sehari.

2.5 Kerangka Penelitian

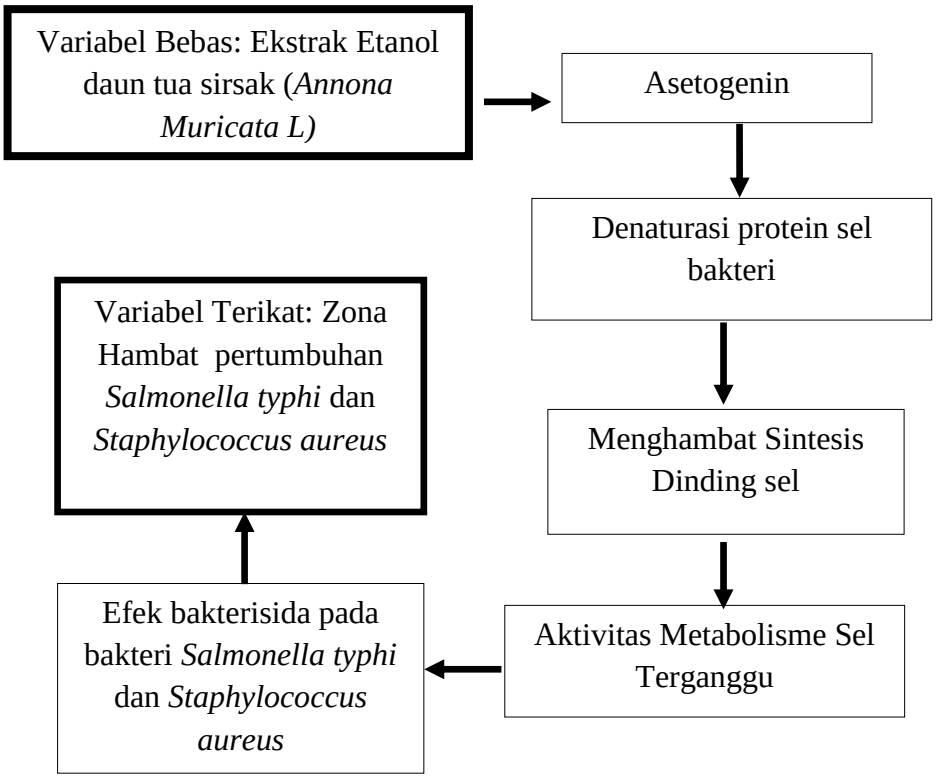
2.5.1 Kerangka Teori

Daun sirsak (*Annona Muricata L)* memiliki beberapa senyawa kimia salah satunya itu adalah Asetogenin. Senyawa Asetogenin mempunyai daya bakterisida(Hambali *et al*, 2012). Daya baktersida ada beberapa jenis, seperti denaturasi protein sel. Denaturasi protein sel pada bakteri akan menyebabkan aktivitas metabolisme sel terganggu dan menyebabkan bakteri mati. Dalam denaturasi protein sel ini mempunyai berbagai cara, seperti menghambat sintesis dinding sel, merusak fungsi membran, dan menghambat sintesis protein(Tjay & Rahardja, 2007).



Gambar 4. Kerangka Teori

3.5.2 Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

3.6 Hipotesis

2.6.1 Hipotesis nol

Tidak terdapat perbedaan derajat pertumbuhan *S. typhi* dan *S. aureus* pada pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona Muricata L).*

2.6.2 Hipotesis alternatif

Terdapat perbedaan derajat pertumbuhan *S. typhi* dan *S. aureus* pada pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona Muricata L).*

BAB 3
METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini bersifat analitik laboratorik dengan menggunankan desain penelitian eksperimen perbandingan satu kelompok statis (*static group comparison)*(Notoadtmodjo, 2010). Rancangan penelitian ini berusaha meneliti efek dari ekstrak daun sirsak *(Annona muricata L.)* terhadap diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi.* Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode sumuran, yaitu dengan cara membuat lubang (sumuran) dengan diameter 6 mm pada media nutrient agar yang sudah tercampur dengan bakteri uji sebanyak 1 ml setiap cawan, setiap cawan dibuat 4 sumuran, kemudian pada setiap sumuran dimasukan ekstrak etanol daun tua sirsak *(Annona muricata L.)* dengan konsentrasi yang berbeda-beda sebanyak 50 µl (Ainurrochmah, 2013).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan November sampai dengan Desember 2016.

3.3 Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian

3.3.1. Mikroba Uji Penelitian

Dalam penelitian yang dilakukan digunakan beberapa mikroba uji, diantaranya adalah baktersi gram positif (+) yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif (-) yaitu *Salmonella typhi*. Kedua bakteri ini akan diperoleh dari UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Bandar Lampung.

3.3.2. Bahan Uji Penelitian

Penelitian ini menggunakan daun sirsak *(Annona muricata L.)*yang siap panen, yang akan diperoleh dari pohon sirsak di rumah salah satu warga yang berlokasi di kota Bandar Lampung. Nantinya daun sirsak *(Annona muricata L.)* akan dibersihkan dan dikeringkan selama 3-5 hari, kemudian daun sirsak *(Annona muricata L.)*ini akan diekstrak di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.3.3. Media Kultur

Media kultur yang digunakan pada penelitian ini ada 2, yaitu lempeng agar darah yang digunakan untuk mengkultur bakteri gram

positif (+) *Staphylococcus aureus* dan lempeng agar *Mac-Conkey* yang digunakan untuk mengkultur bakteri gram negatif (-) *Salmonella typhi*. Setelah dilakukan kultur, digunakan media agar MHA (*Muller Hinton Agar)* sebagai media uji diameter zona hambat bakteri.

3.4 Identifikasi Variabel

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variabel yang dibagi ke dalam beberapa bagian, yaitu variabel independen dan dependen.

3.4.1. Variabel Independen

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirsak *(Annona muricata L.)* dalam berbagai tingkat konsentrasi.

3.4.2. Variabel Dependen

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococccus aureus* dan *Salmonella typhi*.

3.5 Definisi Operasional

	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Ekstrak etanol daun sirsak *(Annona muricata L.)*	Suatu zat yang diperoleh dari ekstraksi dengan menggunakan etanol daun sirsak menjadi cairan daun sirsak melalui proses mekanik dan kimiawi.	Menggunakan persamaan ; $N_1xV_1=N_2xV_2$ **Keterangan** N_1 = konsentrasi awal V_1 = volume awal N_2 = konsentrasi akhir V_2 = Volume akhir	Ekstrak daun sirsak dengan kadar dan volume akhir yang diinginkan	Numerik
2.	Zona Hambat Pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*	Pertumbuhan bakteri yang terbentuk setelah variabel independen dan kontrol positif serta negatif.	Menggunakan metode sumuran	Zona hambat (mm)	Numerik

Tabel 1. Definisi Operasional variabel dependen dan independen

3.6 Besar Sampel

Dalam penilitian ini akan dilakukan pemberian berbagai kadar ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.)* yang akan diuji, yaitu pada kadar 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, serta dengan Seftriakson dan Penisilin sebagai kontrol positif, dan akuades sebagai kontrol negatif yang akan diberikan untuk mempengaruhi pertumbuhan *Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus*. Untuk menentukan banyaknya pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini digunakan rumus Federer:

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

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

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan :

n = banyaknya pengulangan

k = banyaknya perlakuan

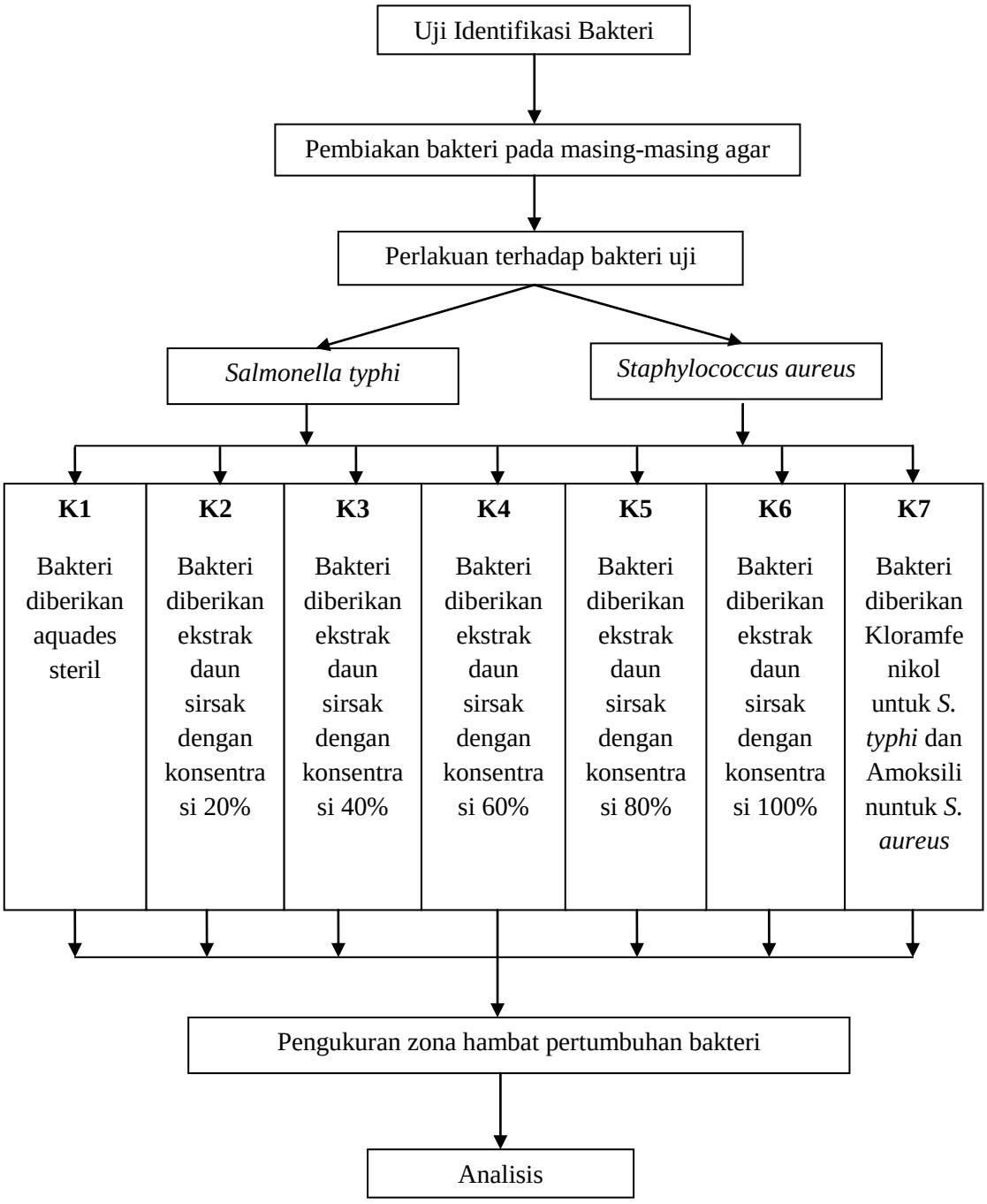
Berdasarkan hasil perhitungan dengan menggunakan rumus Federer diatas maka besar sampel yang digunakan adalah lebih dari sama dengan 3,5. Untuk menghindari terjadinya kesalahan, maka banyak sampel dibulatkan keatas menjadi 4. Besar sampel ini akan digunakan sebagai acuan dilakukannya pengulangan perlakuan pada penelitian ini. Setiap pengulangan dilakukan pada masing-masing konsentrasi dan kontrol, sehingga ada 28 kali perlakuan kepada masing-masing bakteri.

3.6.1 Kelompok Perlakuan

Tabel 2. Kelompok Perlakuan

No	Kelompok	Perlakuan
1.	Kelompok1 (K1)	Kelompok bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan aquades steril.
2.	Kelompok 2 (K2)	Kelompok bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata L)* dengan konsentrasi sebesar 20%.
3.	Kelompok 3 (K3)	Kelompok bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata L.*) dengan konsentrasi sebesar 40%.
4.	Kelompok 4 (K4)	Kelompok bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun sirsak *(Annona Muricata L*) dengan konsentrasi sebesar 60%.
5.	Kelompok 5 (K5)	Kelompok bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata L*) dengan konsentrasi sebesar 80%.
6.	Kelompok 6 (K6)	Kelompok bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata L.*) dengan konsentrasi sebesar 100%.
7.	Kelompok 7 (K7)	Kelompok bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang diberikan Seftriakson (untuk gram negatif) dan Penisilin (untuk gram positif).

3.6.2 Diagram Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

3.7 Prosedur Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini bersifat analitik laboratorik. Dalam penelitian ini, ekstrak daun sirsak diencerkan untuk membuat berbagai macam konsentrasi yang diinginkan didalam tabung reaksi. Setelah terbentuk konsentrasi yang diinginkan, ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.)* dimasukan kedalam sumuran yang telah dibuat, lalu kemudian diamati zona hambat dari pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus.* Penelitian ini akan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

3.7.1. Persiapan

3.7.1.1. Alat Penelitian

1. Rak dan tabung reaksi
2. Ose
3. Beker glass
4. Pipet
5. Kapas alkohol
6. Cawan Petri
7. Alat pengaduk
8. Autoclave
9. Inkubator

3.7.1.2. Bahan Penelitian

1. Ekstrak daun sirsak *(Annona muricata L.)* yang diperoleh dari ekstraksi daun sirsak. Proses pengekstrakan dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
2. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. diperoleh dari UPTD Balai Laboratorium Klinik Bandar Lampung.
3. Media agar nutrient agar, lempeng agar darah, *Mac-Conkey*, dan MHA (*Muller Hinton Agar*).
4. Aquades steril.

3.7.2. Sterilisasi Alat

Alat dan bahan penelitian disterilisasi, kecuali ekstrak daun sirsak dan suspensi kuman, agar bebas dari pengaruh mikroorganisme lain yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian. Sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121^{o}C selama 15-20 menit. Alat-alat ditunggu sampai mencapai suhu kamar dan kering.

3.7.3. Pembuatan Ekstrak Daun sirsak

Ekstrak daun sirsak didapatkan dengan menghaluskan 500 gram daun sirsak tua, lalu dimaserasi dengan 500 ml etanol, selanjutnya disaring. Hasil ekstraksi dimasukan kedalam *rotary evaporator*untuk

menguapkan bahan pelarut ekstrak, sehingga didapatkan larutan aktif yang pekat (larutan stok). Larutan stok ini diencerkan dengan akuades untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%

3.7.4. Identifikasi Bakteri Uji

Identifikasi bakteri uji dilakukan dengan pewarnaan dan tes biokimiawi sebagai berikut:

1. Pewarnaan Gram
2. Tes Biokimiawi Bakteri Gram Positif

   Dilakukan tes katalase untuk membedakan *Staphylococcus sp.* Dengan *Streptococcus sp.* Dengan cara meneteskan H_2O_2 pada koloni bakteri yang diambil menggunakan ose dan dipindahkan ke kaca objek. Hasil positif jika terbentuk busa, menandakan *Staphylococcus sp.* Hasil negatif apabila tidak terdapat busa, menandakan *Streptococcus sp.*

3. Tes Biokimiawi Bakteri Gram Negatif
   1. Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

      Melihat kemampuan bakteri untuk memfermentasikan gula, menghasilkan gas, dan menghasilkan sulfur. Agar ini mengandung 3 jenis gula, yaitu glukosa, laktosa, sakarosa. Hasil positif yang menandakan bakteri memfermentasikan gula adalah terjadi perubahan warna

dasar menjadi kuning. Jika bakteri menghasilkan gas, hasil positif berupa terbentuknya gelembung udara dibagian dasar. Hasil positif yang menandakan baktei menghasilkan H_2S adalah perubahan warna kehitaman pada goresan.

2. Uji Sitrat

   Melihat kemampuan suatu bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber utama metabolisme dan pertumbuhan. Positif bila warna berubah menjadi biru yang artinya timbul warna asam. Hail negatif bila tidak terjadi perubahan menjadi warna biru.

3.7.5. Pembuatan Standar kekeruhan Larutan *McFarland*

Larutan baku *McFarland* terdiri dari 2 komponen, yaitu $BaCl_2$ 1% dan H_2SO_4 1%. Larutan $BaCl_2$ sebanyak 0,05 ml dicampur dengan larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 ml dan diaduk hingga homogen. Nilai absorbansi larutan *McFarland* 0,5 ekuivalen dengan suspensi bakteri 1,5 x 10^8 CFU/ml. Larutan harus diaduk terlebih dahulu sampai homogen setiap akan digunakan untuk membandingkan suspensi bakteri.

3.7.6. Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri

1. Bakteri strain murni *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*dibuat suspensi dengan menambahkan Nacl 0,9 % di dalam tabung yang berbeda, sampai didapatkan kekeruhan yang disesuaikan dengan standar kekeruhan *McFarland* 0,5 untuk mendapatkan bakteri sebanyak 108 CFU/ml.
2. Cara menyesuaikan suspensi bakteri agar sama dengan kekeruhan *McFarland* adalah dengan memegangnya secara berdampingan, satu tabung standar dan satu tabung suspensi bakteri. Kekeruhan dilihat dan dibandingkan secara langsung dengan meletakan tabung reaksi yang berisi suspensi bakteri dan kekeruhan *McFarland* didepan kertas putih yang diberi garis tebal dengan spidol berwarna. Jika kurang keruh, suspensi ditambahkan koloni sedangkan jika lebih keruh ditambahkan NaCl 0,9%.

3.7.7. Teknik Pembuatan Media Agar MHA (*Muller Hinton Agar*)

Timbang 9,5 gram *Muller Hinton Agar* (MHA) 38 gr/l dengan komposisi medium (*Beef infusion* 300 gram, *Casamino acid* 17,5 gram, *Starch* 1,5 gram, dan agar), kemudian larutkan dalam 250 ml akuades lalu dipanaskan sampai mendidih, kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan tekanan udara 1 atm suhu 121^{o}C.

3.7.8. Uji Diameter Zona Hambat *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan Metode Sumuran

1. Campurkan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* pada larutan media agar MHA, lalu diaduk dengan cara memutar gelas sampai dikira sudah tercampur dan tuangkan ke tujuh cawan petri.
2. Campurkan suspensi bakteri *Salmonella typhi* pada larutan media agar MHA, lalu diaduk dengan cara memutar gelas sampai dikira sudah tercampur dan tuangkan ke tujuh cawan petri.
3. Masukan ekstrak daunsirsak tua (*Annona muricata L.)* pada tiap cawan petri yang sudah adasumuran dengan diameter 6mm x 4 sumuran dengan jarak ± 15 mm sebanyak masing-masing 50 µl dengan konsentrasi yang sudah ditentukan.
4. Sebagai kontrol positif digunakan Seftriakson untuk bakteri *Salmonella typhi* dan Penisilin untuk bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 50 µl.
5. Sebagai kontrol negatif, digunakan aquades steril yang dimasukan kedalam sumuran sebanyak 50 µl.
6. Kedua media lalu diinkubasi pada suhu kamar 37^{o}C selama 24 jam.
7. Diukur zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong.

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

3.8.1. Pengolahan Data

Data yang diperoleh kemudian diubah ke dalam bentuk tabel, kemudian data diolah menggunakan program IBM SPSS *Statisticfor Windows* $\alpha = 0{,}05$. Proses pengolahan data menggunakan program komputer terdiri dari beberapa langkah, diantaranya;

1. *Editting*, kegiatan ini berupa pengecekan dan perbaikan data yang menunjang penelitian.
2. *Coding,* mengkonversikan (menerjemahkan) data yang dikumpulkan selama penelitian ke dalam simbol yang sesuai untuk keperluan analisis.
3. *Data entry,* memasukan data kedalam program komputer.
4. *Cleaning,* pengecekan ulang data dari setiap sumber data atau responden untuk melihat kemungkinan adanya kesalahan kode, ketidaklengkapan, dan kemudian dilakukan koreksi.

3.8.2. Analisis Data

3.8.2.1. Analisis Univariat

Analisis univariat bertujuan menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik tiap variabel penelitian. Untuk data numerik digunakan nilai mean atau rata-rata,median, dan standar deviasi. Pada umumnya dalam analisis ini hanya menghasilkan distribusi/ persebaran dari datayang diperoleh.

3.8.2.2. Analisis Bivariat

Besar sampel penelitian ini < 50, maka digunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data. Distribusi data normal jika p > 0,05 dan jika p < 0,05 distribusi data tidak normal. Analisis ini digunakan untuk menganalisis variabel independen, yaitu untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak *(Annona muricata L.)* terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus.* Uji statistik yang digunakan adalah uji*One-Way Anova*. Interpretasi uji satistik ini, yaitu;

1. Bila p < α (0,05) maka hasil bermakna/ signifikan, artinya terdapat hubungan bermakna antara variabel independen dan dependen, atau hipotesis penelitian diterima.

2. Bila p > α (0,05) maka hal ini berarti dua sampel yang diteliti tidak mendukung adanya perbedaan yang bermakna, atau hipotesis penelitian ditolak.

Namun jika data penelitian tidak normal, maka akan dinormalisasi terlebihdahulu, setelah itu bila data masih tidak normal akan digunakan uji alternatif *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Man-Whitney*

3.9 Ethical Clearance

Penelitian ini sudah mendapatkan *Ethical Clearance* dari Fakultas Kedokteran Universitas Lampungdengan nomor surat 445/UN26.8/DL/2016..

BAB V
SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Terdapat zona hambat pada bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphyloccocus aureus* terhadap pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.)*
2. Secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna pada tiap derajat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* terhadap pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.).*
3. Konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L)* memiliki zona hambat paling besar pada *Staphylococcus aureus* yaitu konsentrasi 80% dengan diameter 20,75 mm dan pada *Salmonella typhi* konsentrasi 100% dengan hasil 20 mm

5.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai potensi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.)* sebagai tanaman obat tradisional/ alternatif terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri lain
2. Perlu penelitian lebih lanjut dengan bahan larut yang berbeda.
3. Perlu dilakukan uji coba ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.)*secara *in vivo* untuk uji toksisitas
4. Diharapkan dapat dilakukan penelitian yang lebih lanjut dengan metode yang berbeda guna mengetahui daya hambat ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

Ainurrochmah A, Ratnasari E, Lisdiana L. 2012. Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. Jurnal LenteraBio, 2(3), 233–237.

Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* terhadap Ekstraks Daun *Psidium Guajava L. Bioscientiae* Vol.1 No.1. pp: 8-31

Ansari M, Ahmed S, Halder S. 2006. *Nigella sativa: A Non-conventional Herbal Option for the Management of Seasonal Allergic Rhinitis. Pak J Pharmacol.* 23:31-55

Bachtiar SY, Tjahjaningsih W, Sianita N. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.)* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli.* Journal of Marine and Coastal Science, 1(1) ; 53-60

Brooks GF, Carroll, Karen C, Butel, Janet S, Morse, Stephen A.., 2008. *Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology*, 211-217 : 234-248

Cita YP. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan demam tifoid. Jurnal Kesehatan Masyarakat September - Maret 2011, 6(1), 42–46.

Cossio MLT, Giesen Laura F. Araya, Gabriela. Pérez-Cotapos. Vergara, Ricardo Lopez. Manca, Maura. et al., 2015. Harrison's Principles of Internal Medicine-19th Edition. In *Harrison's Principles of Internal Medicine-19th Edition*. 1842– 3.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. Kebijakan Obat Tradisional Nasional Tahun 2007. 9-10

Dzen, Sjoekoer M., 2003, *Bakteriologi Medik*, Ed. 1, Malang, Bayumedia Publishing, 187-197 & 223-234

Fauci AS. 2008. *Harrison's Internal Medicine*, 17th Edition, USA, McGraw – Hill, 268-270

Fu YJ, Zu Y, Chen L, Wang Z. 2007. *Antimicrobial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils Alone and In Combination, Phytother res,* 21: 989-999

Gordon RJ, Lowy FD. 2008. *Pathogenesis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. Clinical Infectious Diseases*. 46(5):350–9

Hambali RM., Husain DR. & Alam G. 2012. Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Tua Sirsak *Annona muricata L* . Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Jurnal. Universitas Hasanuddin

Hariana A. 2006. Tumbuhan obat dan khasiatnya. Penebar Swadaya : Jakarta 73-74.

Harmita dan Radji, M., 2008. Kepekaan Terhadap Antibiotik. Dalam: *Buku Ajar Analisis Hayati, Ed.3*. EGC, Jakartar: 1-5

Hikma N, 2015. Pengaruh Perasan Daun Sirsak (*Annona muricata L.)* Terhadap Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, Jurnal, Universitas Negeri Gorontalo

Inayatullah S. 2012. Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus. Skripsi. Universitas Negeri Islam Syarif Hidayatullah

Kusuma SAF., 2009. Staphylococcus aureus. Skripsi. *Universitas Padjadjaran*.

Mardiastuti H, Karuniawati A, Kadarsih R. 2007, *Emerging Resistance Pathogen:* Situasi terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. *Majalah Kedokteran Indonesia.* 57 (3): 75-79

Miller LG, Kaplan SL. 2009. Staphylococcus aureus: A Community Pathogen. Infectious Disease Clinics of North America. 1(23):35-52.

Moghadamtousi SZ., Fadaeinasab M., Nikzad, S, Mohan G. 2015. *Annona muricata (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses , Isolated Acetogenins and Biological Activities*, International Journal of Molecular Science, 16, 15625-15658

Nelwan R. 2012. Tata Laksana Terkini Demam Tifoid. *CDK*, 39(4), 247–250.

Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta,

Poeloengan M, Praptiwi.2010 Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah manggis (*Gardniamangostanalinn)*. Media Litbang Kesehatan; 20: 65-9.

Rahmawati MH, Husain DR, Alam G. 2012. Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Tua Sirak *Annona muricata L*. Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Propioniumbacterium acne,* Universitas Hassanudin.

Rangan C, Barceloux D. 2009. *Food Additives and Sensitivities, Dis Mon.* 2(55): 293-311

Retnani V. 2011. Pengaruh Suplementasi Ekstrak Daun *Annona muricata* Terhadap Kejadian Displasia Epitel Kelenjar Payudara Tikus *Sprague Dawley* Yang Diinduksi 7, 12 *Dimetilbenz (α) Antracene*. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.

Rusmiyati I, Dirayah R. Husain GA. 2012. Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Muda Sirsak Annona muricata L. Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Jurnal, Universitas Hasanudin,1–7.

Septiari BB. 2012. *Infeksi Nosokomial.* Jakarta: Nuha Medika

Singh, Heldman R.P.. 2001. *Introduction to Food Engineering*. London:Academic Press

Sjahid. LR. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.). Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta.

Sudoyo A. *et al*. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta : FKUI;

Sunarjono H. 2005. *Sirsak dan Srikaya: Budi Daya Untuk Menghasilkan Buah Prima*. Penebar Swadaya : Jakarta.

Tjay TH, Rahardja K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan*, dan Efek-Efek Sampingnya. Edisi ke VI. Jakarta: PT Elex Media Komputindo: 193

Tuna MR, Billy JK, Michael AL. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L)* Terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. Jurnal Ilmiah Farmasi, UNSRAT, 4(4) :2302-2493

Widiana R, Indriati G, Andika I. 2011. Daya Hambat Sari Daun Sirsak (*Annona muricata L.)* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli.* Jurnal STKIP PGRI Padang 145-154

Winn Jr, Washington C, Allan S, Janda W, Konerman E, Procop G, et al . 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed*, USA, Lippincott Williams & Wilkins,251-259.