

SKRIPSI

**UJI POTENSI ANTITUBERKULOSIS EKSTRAK n-HEKSAN
DAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
SECARA *IN VITRO***

**OLEH
MUHAMMAD SULAIMAN
NIM. 2005018**



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH MEDAN
MEDAN
2024**

**UJI POTENSI ANTITUBERKULOSIS EKSTRAK n-HEKSAN
DAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**OLEH
MUHAMMAD SULAIMAN
NIM. 2005018**



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH MEDAN
MEDAN
2024**

**UJI POTENSI ANTITUBERKULOSIS EKSTRAK n-HEKSAN
DAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan untuk melengkapi dan memenuhi syarat-syarat untuk memperoleh gelar
sarjana farmasi pada program studi sarjana farmasi Sekolah Tinggi Ilmu
Kesehatan Indah Medan

OLEH
MUHAMMAD SULAIMAN
NIM. 2005018



PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH MEDAN
MEDAN
2024

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN INDAH FAKULTAS

TANDA PERSETUJUAN SKRIPSI

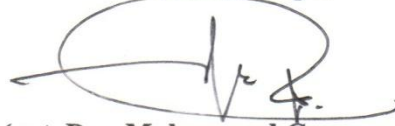
Nama : Muhammad Sulaiman
NIM : 2005018
Program Studi : Sarjana Farmasi
Jenjang Pendidikan : Strata Satu (S-1)
Judul Skripsi : Uji Potensi Antituberkulosis Ekstrak n-heksan dan Ekstrak
Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro*

Pembimbing I



(Dr. apt. Cut Fatimah., M.Si.)
NIDK. 9990275012

Pembimbing II



(apt. Drs. Muhammad Gunawan, M.Si.)
NIDN. 0003056711

Penguji



(apt. Safriana, S.Farm., M.Si.)
NIDN. 0116099102

DIUJI PADA TANGGAL : 19 September 2024
YUDISIUM : 19 September 2024

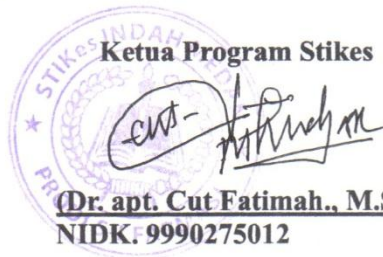
Panitia Ujian

Ketua Stikes



(Anditila, S.Kep., Ners., M.K.M.)
NIDN. 0129017901

Ketua Program Stikes



(Dr. apt. Cut Fatimah., M.Si.)
NIDK. 9990275012

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini.

Nama : Muhammad Sulaiman
NPM : 2005018
Program Studi : Sarjana Farmasi
Jenjang Pendidikan : Strata Satu (S-1)
Judul Skripsi : Uji Potensi Antituberkolosis Ekstrak n-heksan dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro*

Menyatakan bahwa bahan skripsi yang saya buat ini adalah untuk memenuhi persyaratan kelulusan program studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan. Skripsi ini adalah hasil karya sendiri, bukan duplikasi dari karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan yang lain atau yang pernah dimuat di suatu publikasi ilmiah, kecuali dalam bentuk kutipan yang telah disebutkan sumbernya dalam pustaka.

Selanjutnya apabila dikemudian hari ada pengaduan dari pihak lain, bukan menjadi tanggung jawab Dosen Pembimbing, Penguji dan/atau pihak program studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan, tetapi menjadi tanggung jawab sendiri. Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan tanpa paksaan dari siapa pun.

Medan, 19 September 2024

Yang menyatakan



Muhammad Sulaiman
NIM : 2005018

UJI POTENSI ANTITUBERKULOSIS EKSTRAK n-HEKSAN DAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) SECARA *IN VITRO*

ABSTRAK

Tuberkulosis adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, biasanya yang paling umum terinfeksi adalah paru-paru tetapi dapat mengenai orang tubuh lainnya. Penyakit ini dapat menular dari orang ke orang melalui droplet orang yang terinfeksi TB paru. Saat ini kasus TB paru sangat banyak menyerang masyarakat dunia, bahkan Indonesia termasuk negara ke-2 terbesar kasus TB paru. Obat sintetis untuk membasmi TB paru sampai saat ini banyak yang telah resisten, sementara penemuan obat baru sangat jarang maka perlu dicari obat alternatif dari bahan alam misalnya daun sirsak yang telah terbukti dapat mengobati batuk dan berdarah merupakan salah satu gejala tuberkulosis. Maka pada penelitian ini dicoba menguji potensi ekstrak daun sirsak terhadap TB.

Uji potensi terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan metode Lowenstein-Jensen dari ekstrak daun sirsak dengan berbagai variasi konsentrasi. Sampel uji digunakan sputum penderita positif TB yang diidentifikasi terlebih dahulu dengan menggunakan pengecatan Zheil-Nelsen. Ekstrak daun sirsak dibuat secara perkolasi dengan menggunakan penyari n-heksan dan fraksi etanol yang telah dibuat menjadi simplisia dan diuji karakteristiknya.

Hasil pemeriksaan kadar air serbuk simplisia daun sirsak adalah 5% memenuhi syarat simplisia kurang dari 10%. Hasil uji antituberkulosis menunjukkan terjadinya resisten dimulai dari minggu kedua terhadap obat sintetis *Mycobacterium tuberculosis* yaitu rifampisin, etambutol, isoniazid dan terhadap ekstrak n-heksan telah resisten dari minggu pertama dan terhadap ekstrak etanol, minggu pertama sampai minggu ketiga tidak terjadi pertumbuhan dan pada minggu keempat terjadi pertumbuhan positif 1+.

Kata kunci: Antibakteri, daun sirsak (*Annona muricata* L.), *Mycobacterium tuberculosis*.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan, dengan judul "Uji Potensi Antituberkulosis Ekstrak n-heksan Dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro*". Diharapkan dapat menambah pengetahuan penulis dan bagi semua orang yang membaca tulisan ini. Penulis menyadari tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sangat tidak mungkin penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada orang tua, Ibunda Elynawati, kepada abang dan kakak yang tidak henti-hentinya mendoakan dan memberikan semangat serta dukungan baik dari segi materi maupun non-materi.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan rasa terimakasih kepada :

1. Bapak H. Abdul Haris Hasibuan, S.E., sebagai Pembina Yayasan Indah Medan dan Bapak Muhammad Riski Ramadhan Hasibuan, SE, SH, M.KM, sebagai Ketua Yayasan Indah Medan yang telah memberi sarana dan prasarana selama penulis mengikuti pendidikan di program studi S1 Farmasi STIKes Indah Medan.
2. Bapak Andilala, S.Kep., Ners., M.K.M.. sebagai Ketua STIKes Indah Medan yang selalu memberikan semangat dan dorongan kepada penulis dalam mengikuti pendidikan.

3. Ibu Dr. apt. Hj Cut Fatimah, M.Si., sebagai Ketua Prodi S1 Farmasi STIKes Indah Medan, sekali gus sebagai pembimbing I yang selalu memberi masukan, saran dan bimbingan penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi.
4. Bapak apt. Drs. Muhammad Gunawan, M.Si. sebagai sebagai pembimbing II, yang telah banyak memberi masukan, saran dan bimbingan selama penelitian sehingga selesainya penyusunan skripsi.
5. Kepala Laboratorium Fitokimia, Mikrobiologi, dan Teknologi Formulasi STIKes Indah Medan beserta staf yang telah memberikan izin kepada penulis untuk penggunaan fasilitas Laboratorium selama penelitian.
6. Bapak/Ibu staf pengajar Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan yang telah membina dan memberi petunjuk penulis hingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Untuk semua bimbingan dan bantuan yang selalu diberikan kepada penulis dapat menjadi amal ibadah dan pahala dari Allah S.W.T. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, penulis menerima kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan hasil penelitian ini.

Diharapkan semoga hasil penelitian dan skripsi ini dapat bermanfaat menambah pengetahuan dan pengembangan ilmu khususnya di bidang Farmasi.

Medan, 19 September 2024
Yang menyatakan

Muhammad Sulaiman
NIM : 2005018

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
TANDA PERSETUJUAN SKRIPSI	iii
SURAT PERNYATAAN.....	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Hipotesis	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.6 Kerangka pikir penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tumbuhan Sirsak.....	7
2.2 Simplisia	9
2.2.1 Definisi simplisia	9
2.2.2 Jenis-jenis simplisia	9
2.2.3 Tahap pembuatan simplisia.....	10
2.2.4 Karakteristik simplisia	12
2.3 Ekstraksi	12
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder	15
2.4.1 Alkaloid	15
2.4.2 Flavonoid	16
2.4.3 Steroid/Triterpenoid.....	17

2.4.4	Tanin	18
2.4.5	Saponin	19
2.4.6	Glikosida	19
2.5	Tuberkulosis	20
2.5.1	Gejala klinis tuberkulosis	21
2.5.2	Diagnosis laboratorium tuberkulosis	21
2.5.3	Kategori penyakit tuberkulosis	23
2.5.4	Tindakan terapi tuberkulosis	23
2.6	Obat-obat Sintetis Tuberkulosis	24
2.6.1	Isoniazid	24
2.6.2	Rifampisin	25
2.6.3	Pirazinamid	26
2.6.4	Etambutol	27
2.6.5	Streptomycin	28
2.7	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	29
2.7.1	Sistematika bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	29
2.7.2	Sifat-sifat umum <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	29
2.7.3	Morfologi dan fisiologi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	29
2.7.4	Sifat-sifat pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	30
2.7.5	Daya tahan <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	30
2.7.6	Perjalanan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> di dalam tubuh	30
2.7.7	Kultur <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	31
2.7.8	Uji potensi antituberkulosis terhadap <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	31
2.7.9	Standardisasi uji kepekaan <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	34
BAB III METODE PENELITIAN		35
3.1	Rancangan Penelitian	35
3.2	Jadwal dan Lokasi Penelitian	35
3.3	Alat dan Bahan	35
3.3.1	Alat-alat yang digunakan	35
3.3.2	Bahan-bahan yang digunakan	36
3.4	Persiapan Sampel	36

3.4.1	Pengambilan sampel daun sirsak	36
3.4.2	Identifikasi Tumbuhan	36
3.4.3	Pembuatan simplisia daun sirsak	36
3.5	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	37
3.5.1	Pemeriksaan makroskopik simplisia	37
3.5.2	Pemeriksaan mikroskopik simplisia	37
3.5.3	Penetapan kadar air simplisia	37
3.6	Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak	38
3.7	Pembuatan Larutan Pereaksi	40
3.7.1	Pereaksi Mayer	40
3.7.2	Pereaksi Dragendorff	40
3.7.3	Pereaksi Bouchardat	40
3.7.4	Pereaksi Molisch	40
3.7.5	Larutan besi (III) klorida	41
3.7.6	Larutan timbal asetat	41
3.7.7	Larutan Liebermann - Burchard	41
3.7.8	Larutan natrium hidroksida 2 N	41
3.7.9	Larutan asam klorida 2 N	41
3.7.10	Larutan asam sulfat 2 N	41
3.8	Skrining Fitokimia	41
3.8.1	Pemeriksaan alkaloid	42
3.8.2	Pemeriksaan glikosida	42
3.8.3	Pemeriksaan flavonoida	43
3.8.4	Pemeriksaan saponin	44
3.8.5	Pemeriksaan steroid/triterpenoid	44
3.8.6	Pemeriksaan tanin	45
3.9	Persiapan Bahan Pereaksi dan Media Bakteri	45
3.9.1	Pembuatan malachit <i>green</i> 2%	45
3.9.2	Pembuatan pereaksi untuk pewarnaan Zeihl-Nelsen	45
3.9.3	Pembuatan media Loweinstein-Jensen (LJ)	46
3.9.4	Pembuatan media LJ yang mengandung bahan uji	48
3.10	Persiapan Bahan Obat (Pembanding) dan Bahan Uji	48

3.11 Uji Potensi Antituberkulosis.....	51
3.11.1 Pengambilan spesimen sputum.....	51
3.11.2 Identifikasi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	51
3.11.3 Kultivasi dan isolasi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada.. media Lowenstein-Jensen.....	52
3.12 Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	53
3.13 Inokulasi Suspensi Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	53
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	55
4.1 Hasil identifikasi sampel	55
4.2 Hasil Pemeriksaan Makroskopik Daun Sirsak	55
4.3 Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Daun Sirsak	55
4.4 Hasil Pemeriksaan Kadar Air	56
4.5 Hasil Ekstraksi.....	56
4.6 Hasil Skrining Fitokimia	56
4.7 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	58
4.8 Hasil Uji Aktivitas Anti Tuberkulosis.....	58
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	62
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Monografi isoniazid	25
Tabel 2.2 Monografi rifampisin	26
Tabel 2.3 Monografi pirazinamid.....	27
Tabel 2.4 Monografi etambutol.....	27
Tabel 2.5 Monografi streptomycin.....	28
Tabel 3.1 Bahan uji <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	50
Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia daun sirsak, simplisia, ekstrak etanol, ekstrak <i>n</i> -heksan.....	56
Tabel 4.2 Hasil uji aktivitas antituberkulosis	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 Kerangka pikir	6
Gambar 2.1 Tumbuhan Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	7
Gambar 2.2 Contoh struktur kimia alkaloid	16
Gambar 2.3 Contoh struktur kimia flavonoid	17
Gambar 2.4 Contoh struktur dasar steroid.....	18
Gambar 2.5 Contoh struktur kimia tanin.....	19
Gambar 2.6 Contoh struktur saponin	19
Gambar 2.7 Contoh struktur glikosida	20
Gambar 4.1 Media LJ yang belum diberikan bahan uji dan kuman <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	58

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Identifikasi Tumbuhan Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	66
Lampiran 2 Hasil Makroskopik serbuk simplisia daun Sirsak	67
Lampiran 3 Hasil Mikroskopik serbuk simplisia daun Sirsak	68
Lampiran 4 Bagan penetapan kadar air.....	69
Lampiran 5 Hasil penetapan kadar air	70
Lampiran 6 Bagan pembuatan ekstrak etanol dan n-heksan daun sirsak.....	71
Lampiran 7 Hasil ekstrak etanol dan n-heksan daun sirsak	72
Lampiran 8 Bagan Pembuatan Pembenihan Media Telur	73
Lampiran 9 Bagan pengecatan bakteri.....	74
Lampiran 10 Pemeriksaan kultur biakan	75
Lampiran 11 Tes kepekaan terhadap obat dan ekstrak.....	76
Lampiran 12 Hasil mikroskopik <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	77
Lampiran 13 Pertumbuhan koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada media Ogawa	78
Lampiran 14 Media Ogawa yang sudah ditanam bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada minggu pertama	79
Lampiran 15 Media Ogawa yang sudah ditanam bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada minggu kedua	80
Lampiran 16 Media Ogawa yang sudah ditanam bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada minggu ketiga	81
Lampiran 17 Media Ogawa yang sudah ditanam bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada minggu keempat	82

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri berbentuk batang yaitu *Mycobacterium tuberculosis*. Bagian tubuh paling umum terinfeksi yaitu organ paru-paru akan tetapi juga dapat mengenai organ tubuh lainnya. Tuberkulosis(TB) dapat menular melalui droplet dari orang yang terinfeksi. Tuberkulosis Paru adalah penyakit menular yang dapat mengancam kesehatan masyarakat di seluruh belahan dunia, apalagi terhadap negara-negara yang sedang berkembang. tuberkulosis ini penyebab kematian nomor tiga terbesar setelah penyakit pada semua golongan umur. tuberkulosis juga penyebab penyakit nomor satu pada kelompok penyakit menular atau penyakit infeksi (Pertiwi, 2012).

Berdasarkan laporan Kemenkes RI pada tahun 2020 penderita tuberkulosis di Indonesia mencapai angka 351.936 kasus. Salah satu wilayah yang memiliki angka tuberkulosis yang tinggi di Indonesia adalah Provinsi Sumatera Utara dengan jumlah kasus 33.779 (Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Utara, 2020). salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam pencegahan kasus Tuberkulosis dengan memberikan informasi berupa faktor-faktor yang mempengaruhi Tuberkulosis di Sumatera Utara (Santi, 2022).

World Health Organization (WHO) dalam *Global Tuberculosis Report* 2020, Indonesia merupakan negara ke-2 tertinggi dengan jumlah kasus TB terbesar di dunia setelah India. Pada tahun 2014 ditemukan jumlah kasus baru

Tuberkulosis (dibuktikan dengan tes sputum) sebanyak 176.677 kasus, menurun bila dibandingkan kasus baru Tuberkulosis yang ditemukan tahun 2013 yang sebesar 196.310 kasus. Jumlah kasus tertinggi yang dilaporkan terdapat di provinsi dengan penduduk jumlah besar yaitu Jawa Barat, Jawa Timur, dan Jawa Tengah. Kasus baru Tuberkulosis di tiga provinsi tersebut sebesar 40% dari jumlah seluruh kasus baru di Indonesia (Hasanuddin *et all.*, 2022).

Peningkatan kasus tuberkulosis juga dipengaruhi dari masing-masing individu seperti tingkat kepatuhan penderita dalam berobat masih sangat kurang hal ini di akibatkan pengobatan yang membutuhkan waktu yang lama yaitu kurang lebih 6 bulan, sehingga sering kali timbulnya resisten ganda, berkurangnya daya bakterisid obat yang ada pada pasien termasuk kategori putus obat dan penanganannya sulit sehingga muncul multi drug resisten, TB lebih mudah menular pada orang dengan tempat tinggal di kawasan perumahan yang padat, kurang adanya sinar matahari yang masuk ke rumah (Muslimah, 2018).

Secara tradisional, ada tanaman yang dapat mengobati atau mengurangi batuk berdahak dan darah yang digunakan dengan cara meminum hasil rebusan bahan tanaman. Batuk dengan dahak dan darah merupakan salah satu gejala tuberkulosis. Ada kemungkinan tanaman ini memiliki efektivitas sebagai anti tuberkulosis, salah satu bahan nabatinya adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.), namun cara penggunaannya dinilai kurang populer karena kurang praktis dan memiliki rasa asam dan volume yang besar.

Sirsak merupakan tumbuhan dengan berbagai macam manfaat bagi kesehatan baik daging buah, daun maupun bijinya memiliki kandungan kimia yang bermanfaat untuk pengobatan, antara lain sebagai antibakteri, antivirus,

antioksidan, antijamur, antiparasit, antihipertensi, antistres, dan menstabilkan sistem saraf. Khasiat daun sirsak dalam pengobatan berbagai penyakit khususnya terhadap TBC tentunya karena ada kandungan berbagai senyawa kimia di antaranya metabolit sekunder. Kandungan bahan kimia ini dalam ekstrak kemungkinan berbeda dengan penyari yang berbeda, oleh karena itu perlu dilakukan ekstraksi dengan berbagai penyari (Wullur, 2012).

Peneliti melakukan pembuatan ekstrak daun sirsak menggunakan pelarut n-heksan dan etanol, melakukan skrining dan uji aktivitas ekstrak sirsak terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sebagai penyakit TBC, ekstrak daun sirsak yang diekstraksi dengan berbagai bahan penyari yaitu n-heksan dan etanol sebagai anti tuberkulosis terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang diambil dan diisolasi langsung dari sputum penderita tuberkulosis di Rumah Sakit Haji Adam Malik Medan Sumatera Utara, sehingga diketahui perbedaan efektivitas ekstrak daun sirsak dengan berbagai bahan penyari dan terlibat dengan jenis bahan penyari yang memberi hasil yang paling kuat. Penelitian ini juga dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode *Loweinstein-Jensen* dengan media Ogawa dan dilakukan perbandingan dengan bahan obat anti tuberkulosis sintetis yaitu rifampisin, etambutol, dan isoniazid.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan berikut dapat dirumuskan:

- a. Apakah daun sirsak segar, simplisia, ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder?

- b. Apakah ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*?
- c. Apakah ada perbedaan potensi antibakteri *Mycobacterium tuberculosis* antara ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol daun sirsak, dan ekstrak mana yang lebih kuat potensi antibakteri *Mycobacterium tuberculosis*?

1.3 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah diperoleh hipotesis penelitian:

- a. Daun sirsak segar, simplisia, ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid, dan glikosida.
- b. Ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.
- c. Terdapat perbedaan potensi antibakteri *Mycobacterium tuberculosis* antara ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol daun sirsak, dan ekstrak dengan penyari tertentu yang memiliki potensi antibakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang lebih kuat.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan permasalahan, diperoleh tujuan penelitian:

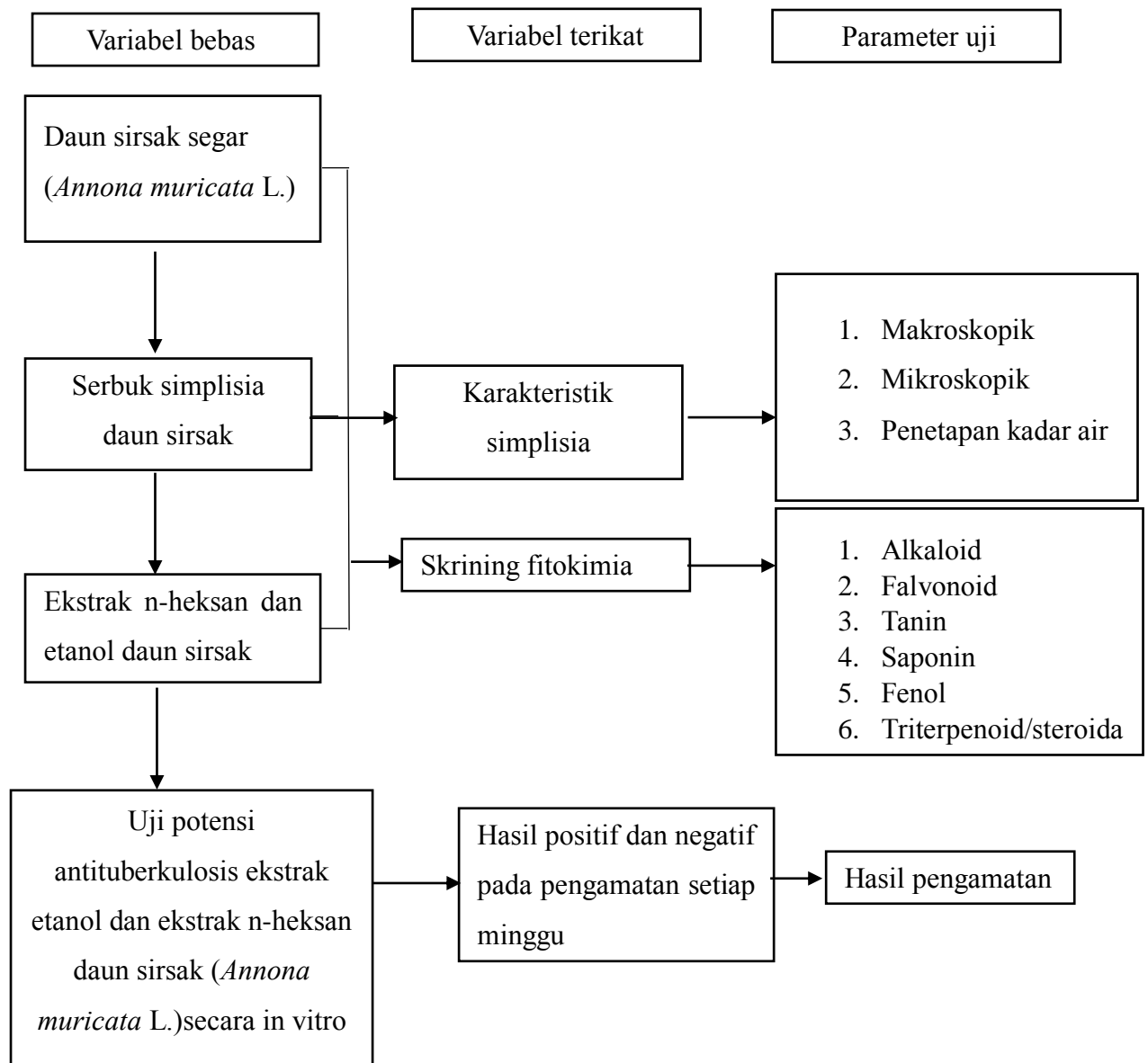
- a. Untuk mengetahui kandungan berbagai senyawa metabolit sekunder dalam daun sirsak segar, simplisia, ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol.

- b. Untuk mengetahui ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol daun sirsak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.
- c. Untuk mengetahui perbedaan potensi antibakteri *Mycobacterium tuberculosis* antara ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol daun sirsak, dan ekstrak dengan penyari tertentu yang lebih kuat potensi antibakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

1.5 Manfaat Penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai kandungan berbagai senyawa dalam daun sirsak (*Annona muricata* L.), sehingga dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan TBC. Selain itu penelitian ini bermanfaat untuk mengembangkan ilmu pengetahuan dan memperluas wawasan dalam bidang kesehatan, khususnya mengenai potensi daun sirsak terhadap efek bakteri tuberkulosis.

1.6 Kerangka pikir penelitian



Gambar 1.1 Kerangka pikir

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Sirsak

Sirsak (*Annona muricata* L.) adalah jenis tanaman dari keluarga Annonaceae yang memiliki manfaat besar bagi kehidupan manusia, sebagai tanaman obat tradisional yang memiliki banyak khasiat dan daun sirsak mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, kumarin, lakton, antrakuinon, tanin, kardiak glikosida, fenol, fitosterol, dan saponin (Febrianti, 2018).

2.1.1 Taksonomi tumbuhan sirsak

Klasifikasi tumbuhan sirsak sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Ranales
Famili	: Annonaceae
Genus	: Annona
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L.(Sunarjono, 2005)



Gambar 2.1 Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata* L.)

2.1.2 Morfologi tumbuhan sirsak

Daun sirsak berbentuk bulat panjang dengan ujung runcing. Warna daun bagian atas hijau tua, sedangkan bagian bawah hijau kekuningan. Daun sirsak tebal dan agak kaku dengan urat daun menyirip atau tegak pada urat daun utama. Aroma yang ditimbulkan daun berupa langu yang tidak sedap. Pohon sirsak berkayu keras dan bercabang sedikit. Arah cabangnya tidak menentu atau berserakan sehingga sulit diatur. Batang sirsak umumnya kecil, tetapi agak liat sehingga tidak mudah patah. Buah sirsak umumnya lonjong, berduri halus, dan lunak. Buahnya berkembang membesar, Daging tersebut berwarna putih. Rasa buah matang umumnya masam sampai manis, Biji buah yang telah tua berwarna hitam kecokelatan dan berbentuk gepeng (pipih) (Sunarjono, 2005).

2.1.3 Kandungan daun sirsak

Salah satu tanaman obat yang ditemukan di Indonesia adalah sirsek (*Annona muricata* L.). Daun sirsak mengandung berbagai senyawa seperti tanin, fitosterol, kalsium oksalat, alkaloid, serta asetogenin monotetrahydrofurans, termasuk anomuricin A dan B, gigantetrophin A, annonasin-10-one, murcatosin A dan B, annonasin, dan goniotalamicin. Dalam penggunaannya, orang biasanya merebus daun sirsak, kemudian air matang diminum (Wullur, 2012).

2.1.4 Manfaat daun sirsak

Secara tradisional daun sirsak digunakan untuk mengatasi berbagai keluhan seperti sakit kepala, demam, sakit gigi, batuk, dan asma. Daun ini diketahui mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, tanin, dan flavonoid. Tanaman yang mengandung flavonoid dan alkaloid memiliki kemampuan untuk

menghambat pertumbuhan bakteri kriogenik, sedangkan tanin juga berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Rahman, 2017).

2.2 Simplisia

2.2.1 Definisi simplisia

Istilah simplisia berasal dari kata "*simpleks*" atau "*simple*" yang artinya sederhana. Dalam konteks penggunaan tanaman berbahan obat, simplisia mengacu pada bahan baku obat yang berasal dari alam dan masih dalam bentuk aslinya atau belum mengalami perubahan. Menurut Kementerian Kesehatan, simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat tanpa melalui proses pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain, seperti dalam kasus bahan kering.

2.2.2 Jenis-jenis simplisia

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berasal dari tumbuhan, baik dalam bentuk semua bagian tanaman, organ tertentu, atau eksudat. Eksudat adalah zat yang keluar dari sel tumbuhan secara alami atau dengan teknik tertentu, atau bahan nabati yang diambil dari tumbuhan melalui proses ekstraksi. Contoh organ tanaman yang dapat digunakan untuk membuat simplisia antara lain herbal (tanaman utuh), akar, umbi-umbian, rimpang, batang, daun, bunga, buah-buahan, biji-bijian, pati, getah, resin, minyak, dan kulit kayu.

b. Simplisia hewani

Simplisia hewan adalah simplisia yang bahan dasarnya berasal dari hewan. Jenis simplisia ini juga dapat berupa hewan utuh atau zat yang diproduksi oleh hewan dan belum berbentuk senyawa kimia murni, seperti madu (*Mel depuratum*) dan minyak ikan (*Oleum iecoris asselli*).

c. Simplisia pelikan

Simplisia pelikan adalah simplisia berupa bahan mineral atau pelikan, masih belum melalui proses pengolahan atau sudah diolah namun masih dengan teknik yang sederhana dan masih belum berupa bahan kimia murni. Contohnya adalah bubuk tembaga dan seng (Widaryanto, 2018).

2.2.3 Tahap pembuatan simplisia

Tahapan pembuatan simplisia adalah sebagai berikut:

a. Pengumpulan bahan baku

Kandungan senyawa aktif atau metabolit sekunder dalam suatu simplisia berbeda-beda dikarenakan tergantung pada faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman, bagian tanaman yang digunakan dalam pembuatan simplisia, waktu pemanenan dan umur tanaman ketika di panen.

b. Sortasi basah

Pemisahan kotoran ataupun bahan asing dari bahan simplisia adalah tujuan dari sortasi basah. Kotoran ataupun bahan asing yang seringa mencemari simplisia antara lain tanah, kerikil, rumput, batang, dan daun yang sudah rusak wajib dibuang. Tanah memiliki beragam mikroba dalam jumlah yang besar, oleh sebab itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut bisa mengurangi jumlah mikroba dari bahan simplisia.

c. Pencucian

Tujuannya adalah untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroba yang menempel pada bahan. Pencucian harus dilakukan segera setelah panen karena dapat mempengaruhi kualitas bahan. Pencucian dilakukan dengan air bersih dan diulang sampai kotoran hilang. Perlu dicatat pencucian ini harus

dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin untuk menghindari hancurnya zat yang terkandung dalam bahan.

d. Perajangan

Perajangan bahan dikerjakan untuk memudahkan tahapan selanjutnya, seperti pengeringan, pengemasan, penyulingan minyak atsiri, dan penyimpanan. Proses ini biasanya diterapkan pada bahan yang cukup besar dan memiliki tekstur yang keras, seperti akar, rimpang, batang, dan buah. Ukuran potongan yang dihasilkan oleh layar disesuaikan dengan jenis bahan dan mempengaruhi kualitas simplicia yang dihasilkan. Potongan yang terlalu tipis dapat menyebabkan penurunan kandungan zat aktif, sedangkan potongan yang terlalu tebal menyulitkan untuk mengurangi kadar air, memperpanjang waktu pengeringan, dan meningkatkan risiko pertumbuhan jamur.

e. Pengeringan

Setelah proses pencucian, bahan ditiriskan di rak-rak pengering. Khusus untuk bahan rimpang, proses pengeringan biasanya memakan waktu 4-6 hari. Setelah pengeringan, bahan disortir kembali jika akan langsung digunakan dalam kondisi segar sesuai permintaan. Pengeringan merupakan metode pengawetan atau pengolahan yang bertujuan mengurangi kadar air dalam bahan agar pembusukan dapat dicegah. Proses ini menghasilkan simplisia yang standar, tahan lama, dan tidak mudah rusak selama penyimpanan. Selama pengeringan, kadar air serta reaksi-reaksi zat aktif dalam bahan akan berkurang, sehingga pengaturan suhu dan durasi pengeringan sangat penting. Suhu pengeringan disesuaikan dengan jenis bahan, umumnya berkisar antara 40-60°C. Hasil pengeringan yang baik ditandai dengan simplisia yang memiliki kadar air sekitar 10%.

f. Sortasi kering

Penyortiran dilakukan untuk memisahkan simplicia dari benda asing seperti akar, pasir, kotoran unggas, atau kontaminan lainnya. Proses ini merupakan tahap akhir dalam pembuatan simplicia kering sebelum memasuki tahap pengemasan, penyimpanan, atau pemrosesan lebih lanjut. Setelah penyortiran selesai, simplicia ditimbang untuk menentukan hasil dari seluruh proses pasca panen.

g. Pengemasan

Pengemasan dilakukan pada simplisia yang telah dikeringkan, menggunakan berbagai jenis kemasan seperti plastik, kertas, atau karung goni. Kemasan yang dipilih harus memenuhi syarat untuk menjaga kualitas produk, mudah digunakan, mempermudah penanganan, melindungi isi selama transportasi, tidak beracun, serta tidak bereaksi dengan isi. Idealnya, kemasan juga memiliki bentuk dan tampilan yang menarik (Ghozaly, 2023).

2.2.4 Karakteristik simplisia

Karakteristik simplisia ditentukan melalui pemeriksaan deskripsi serta pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Proses ini mencakup penentuan kadar air, kadar sari larut dalam air, kadar sari larut dalam etanol, kadar abu, serta kadar abu tidak larut dalam asam. Selain itu, dilakukan juga skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif dalam simplisia (Mayasari, 2018).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah pelarut

sebagai pemisah. metode ekstraksi dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi cara dingin dan cara panas.

a. Metode ekstraksi cara dingin, yaitu:

1. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi padat-cair yang dilakukan paling sederhana. Proses ini dikerjakan dengan cara merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai untuk melarutkan analit dalam sampel. Biasanya, sampel ini direndam selama 3-5 hari sambil diaduk sesekali untuk mempercepat pelarutan analit. Ekstraksi pun dilakukan berulang kali sampai semua analit diekstraksi dengan sempurna, yang ditandai dengan pelarut menjadi tidak berwarna. Metode ini memiliki keunggulan karena peralatan dan prosedurnya sederhana serta cocok untuk analit yang tahan maupun tidak tahan panas. Kelemahan dari maserasi adalah membutuhkan jumlah pelarut yang cukup banyak (Leba, 2017).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi padatan cair yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut secara perlahan pada sampel didalam perkolasi. Pada jenis ekstraksi ini, pelarut ditambahkan secara perlahan dan terus menerus, sehingga proses ekstraksi selalu dilakukan dengan menggunakan pelarut baru. Penambahan pelarut dilakukan dengan menggunakan pola tetesan pelarut yang keluar dari bejana terpisah tetesannya disesuaikan dengan jumlah pelarut yang keluar atau dilakukan dengan menambahkan pelarut secara berkelanjutan (Leba, 2017).

b. Metode ekstraksi cara panas, yaitu:

1. Sokletasi

Sokletasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan alat soket. Dalam ekstraksi sokletasi pelarut dan sampel diletakkan secara terpisah. Prinsipnya adalah bahwa ekstraksi dilakukan secara terus menerus menggunakan jumlah kecil pelarut. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dapat diuapkan untuk mendapatkan ekstrak. Pelarut yang umum digunakan adalah pelarut yang mudah menguap atau memiliki titik didih rendah. Proses pembuatan socreation dilakukan dengan memanaskan pelarut, sehingga uap pelarut yang terbentuk akan didinginkan di dalam kondensor dan terus menerus membasahi sampel. Pelarut yang terkontaminasi analit kemudian dikembalikan ke labu secara teratur (Leba, 2017).

2. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut, dengan waktu yang ditentukan dan jumlah pelarut yang terbatas namun tetap konstan, menggunakan pendingin balik. Metode ini bertujuan untuk memperoleh hasil ekstraksi yang lebih baik atau sempurna. Biasanya, refluks dilakukan secara berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama. Proses ini juga kemungkinan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan terhadap panas (Hujjatusnaini, 2021).

3. Infusa

Infus adalah sediaan cair yang dilakukan dengan mengekstraksi bahan nabati dengan menggunakan pelarut air pada suhu 90 C selama 15 menit (Ambarwati, 2018). Umumnya, infus selalu terbuat dari simplicia yang

memiliki jaringan lunak seperti bunga dan daun, yang mengandung minyak esensial, dan zat yang tidak tahan terhadap pemanasan yang berkepanjangan (Hujjatusnaini, 2021).

4. Dekoktasi

Dekoktasi merupakan ekstraksi dengan cara perebusan, di mana pelarutnya adalah air pada temperatur 90-95 °C selama 30 menit (Dahlia, 2019). Bentuk sediaan ini dapat disimpan pada suhu dingin untuk dipakai dalam jangka waktu yang lama dengan syarat tidak terjadi kontaminasi (Hujjatusnaini, 2021).

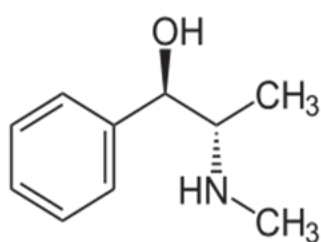
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan atau dikeluarkan sebagai adaptasi biokimia yang dilakukan oleh golongan tumbuhan umumnya termasuk daun sirih (Aulia, 2014). Metabolit sekunder adalah molekul kecil, bersifat spesifik, mempunyai struktur yang bervariasi, serta memiliki fungsi atau peranan yang berbeda-beda (Maisarah, 2023).

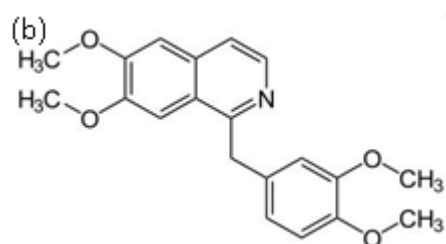
2.4.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik dengan berat molekul kecil yang mengandung nitrogen dan memiliki efek farmakologi pada manusia serta hewan. Secara alami, alkaloid ditemukan dalam biji, buah, batang, akar, daun, dan organ lainnya. Nama alkaloid berasal dari kata "alkalin," yang merujuk pada keberadaan atom basa nitrogen. Alkaloid ditemukan pada tanaman (seperti vinca dan datura), hewan (misalnya kerang), dan fungi. Alkaloid umumnya berasal dari asam amino, dan banyak di antaranya bersifat racun. Selain itu, alkaloid sering digunakan dalam pengobatan, dan hampir semuanya memiliki rasa pahit. Suatu cara

mengklasifikasikan alkaloid adalah didasarkan pada jenis cincin heterosiklik nitrogen yang terikat, kebiasaan alkaloid menyebabkan senyawa ini mudah terdekomposisi terutama oleh panas, sinar dan oksigen membentuk N-oksida. dilihat dari letak unsur N pada alkaloid dibagi menjadi dua yaitu alkaloid non heterosiklis dimana unsur N nya tidak terletak pada rantai heterosiklis tetapi terletak pada rantai alifatis. sedangkan alkaloid heterosiklis unsur N nya terletak pada rantai heterosiklis (Endarini, 2016).



Efedrin (Golongan non heterosiklik)



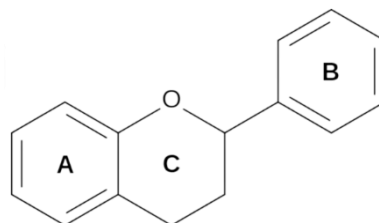
Kofein (inti xantin), (Golongan heterosiklik)

Gambar 2.2 Contoh struktur kimia alkaloid

2.4.2 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan dalam flavonoid senyawa yang terdiri dari 15 atom C yang umumnya tersebar di dunia tumbuhan. Flavonoid tersebar luas di tanaman mempunyai banyak fungsi, flavonoid adalah pigmen tanaman untuk memproduksi warna bunga merah atau biru pigmentasi kuning pada kelopak yang digunakan untuk menarik hewan penyerbuk, flavonoid memiliki berbagai fungsi bagi tumbuhan, seperti sebagai pengatur pertumbuhan, pengatur proses fotosintesis, serta memiliki sifat antimikroba, antivirus, dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid diproduksi oleh jaringan tumbuhan sebagai respons terhadap infeksi atau luka, dengan tujuan untuk menghambat serangan tersebut. Banyak flavonoid yang diketahui

memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu tumbuhan yang mengandung flavonoid sering digunakan dalam pengobatan tradisional. Terdapat berbagai jenis flavonoid yang dibedakan berdasarkan tingkat oksidasi rantai propan, seperti kalkon, flavan, flavanol (katekin), flavanon, flavanonol, flavon, flavanon, antosianidin, dan auron (Endarini, 2016).

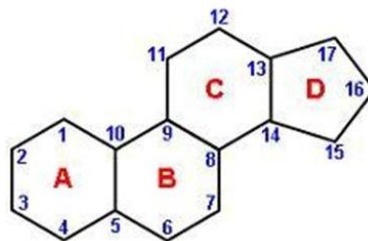


Gambar 2.3 Contoh struktur kimia flavonoid

2.4.3 Steroid/Triterpenoid

Steroid adalah terpenoid yang kerangka dasarnya terbentuk dari sistem cincin siklopentana prehydrophenanthrene. Steroid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak digunakan sebagai obat, hormon steroid umumnya diperoleh dari senyawa steroid alami, terutama pada tumbuhan (Minarno, 2015).

Terpenoid adalah komponen tumbuhan yang memiliki bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan distilasi yang disebut minyak esensial. Minyak atsiri yang berasal dari bunga pada awalnya diketahui dari penentuan struktur yang sederhana, yaitu dengan membandingkan atom hidrogen dan atom karbon dari tumbuhan terpenoid, yaitu 8:5 dan dengan perbandingan ini, dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut adalah gugus terpenoid (Minarno, 2015).

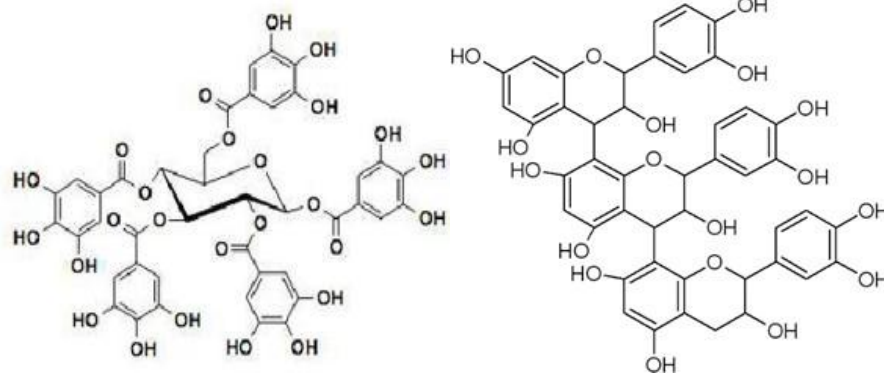


Gambar 2.4 Contoh struktur dasar steroid

2.4.4 Tanin

Tanin merupakan salah satu golongan senyawa polifenol yang juga banyak dijumpai pada tanaman. Tanin dapat diartikan sebagai senyawa polifenol dengan berat molekul yang sangat besar dan dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein, sering digunakan sebagai antiseptik yang memiliki aktivitas antibakteri, dalam konsentrasi tinggi dapat menembus dan mengganggu dinding sel dan protein dalam sel bakteri. Tanin berdasarkan sifat kimianya dibagi 2 (dua), yaitu:

- a. Tanin terhidrolisa terdiri dari polihidrik yang mengandung ester glikosida. Tanin ini dapat terhidrolisa dengan asam atau enzim, dan hasil hidrolisisnya akan menghasilkan warna biru kehitaman. Contoh dari tanin terhidrolisa ini adalah asam gallat dan asam ellagat, yang dikenal sebagai gallotanin. Gallotanin dapat ditemukan pada mawar merah, kacang, daun eukaliptus, dan tanaman lainnya.
- b. Tanin terkondensasi adalah polimer senyawa flavonoid yang terhubung melalui ikatan karbon-karbon, seperti katekin dan galokatekin. Tanin ini hampir terdapat di semua jenis paku-pakuan dan gymnospermae, banyak ditemukan pada angiospermae, terutama pada tanaman berkayu (Endarini, 2016).



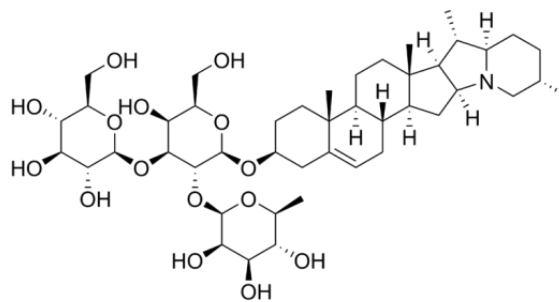
Tanin terhidrolisis (Galotanin)

Tanin terkondensi (Prosianidin)

Gambar 2.5 Contoh struktur kimia tanin

2.4.5 Saponim

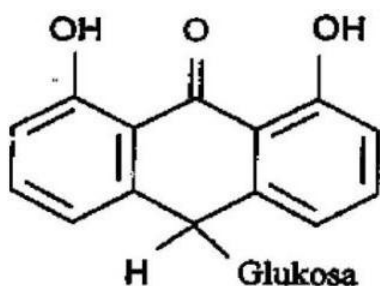
Saponin adalah senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang terutama diproduksi oleh tumbuhan, hewan laut tingkat rendah, dan beberapa bakteri. Nama "saponin" berasal dari bahasa Latin "sapo", yang berarti sabun, diambil dari tanaman *saponaria vaccaria* yang mengandung saponin dan digunakan sebagai sabun cuci. Saponin juga berfungsi sebagai zat antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, dan antijamur, sehingga dapat digunakan dalam proses penyembuhan luka (Putri, 2023).

**Gambar 2.6** Contoh struktur saponin

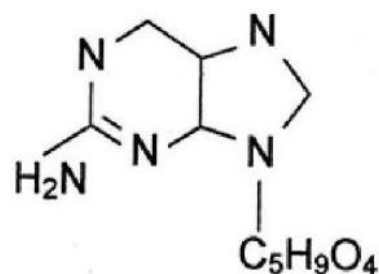
2.4.6 Glikosida

Glikosida adalah senyawa metabolit sekunder yang terikat pada senyawa gula melalui ikatan glikosida. Senyawa ini memiliki peran penting dalam sistem

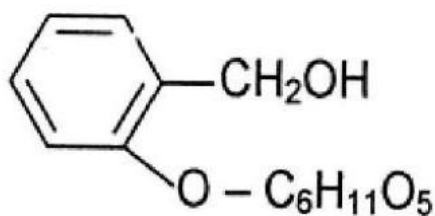
kehidupan organisme. Beberapa tanaman menyimpan senyawa kimia dalam bentuk glikosida tidak aktif. Senyawa kimia ini akan diaktifkan kembali dengan bantuan enzim hidrolase, yang memecah bagian gula dan menghasilkan senyawa kimia yang siap digunakan. Bagian gula dari glikosida terikat pada atom karbon anomer, membentuk ikatan glikosida. Glikosida dapat mengikat atom O- (O-glikosida), N- (glikosida amina), S- (tioglikosida), atau C- (C-glikosida). Bagian gula disebut glikon, sedangkan bagian non-gula disebut aglikon atau genin. Glikon berupa gula tunggal (monosakarida) atau beberapa unit gula (oligosakarida) (Julianto, 2019).



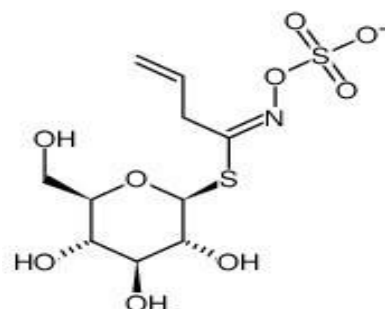
Alonin (C-glikosida)



Guanosin (N-glikosida)



Salisin (O-glikosida)



Sinigrin (S-glikosida)

Gambar 2.7 Contoh struktur glikosida

2.5 Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang dapat menular disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan menjadi salah satu penyakit menular

yang menyebabkan kematian. di Indonesia menempati urutan ke-2 sebagai negara dengan jumlah pasien TB terbanyak, penyakit menular yang mampu berkembang secara cepat karena penularan penyakit melalui udara. Penyakit TB berpotensi besar untuk menular ke orang sekitar saat penderita mengalami batuk dan bersin maka mengeluarkan *Mycobacterium tuberculosis* melalui udara dalam bentuk percikan dahak (Muslimah, 2018).

2.5.1 Gejala klinis tuberkulosis

Gejala umum meliputi kelelahan, lesu, penurunan berat badan, dan demam. Sedangkan gejala yang muncul pada Tuberkulosis paru termasuk batuk berdarah, nyeri dada, anemia, keringat malam, serta peningkatan laju endapan darah (LED) akibat meningkatnya kadar IgG dan IgA (Irianti, 2016).

2.5.2 Diagnosis laboratorium tuberkulosis

Diagnosis penyakit tuberkulosis yang paling akurat dapat dilakukan melalui pemeriksaan mikrobiologis dengan mengisolasi bakteri penyebabnya. Spesimen yang digunakan dapat berupa dahak segar, cairan lambung, urin, cairan pleura, cairan otak, cairan sendi, bahan biopsi, dan lain-lain, yang kemudian diidentifikasi dengan berbagai metode:

- a. Pewarnaan biasanya memberikan informasi yang cukup mengenai organisme yang ada, yang dapat membantu dalam menetapkan diagnosis sementara.
- b. Basil Tahan Asam (BTA) digunakan untuk mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis*, di mana setelah pewarnaan, bakteri ini tidak berubah warna saat terpapar alkohol asam.

- c. Kultur sputum digunakan untuk mengidentifikasi organisme spesifik guna memastikan diagnosis. Dalam pemeriksaan ini, sputum harus dikumpulkan sebelum pengobatan antibiotik dimulai, serta setelah pengobatan untuk mengevaluasi efektivitas terapi (Retno, 2017). Hasil biakan adalah:

(-) : tidak ada pertumbuhan berwarna hijau

(1+) : terdapat sedikit koloni berwarna kuning, sekitar 1-200 koloni

(2+) : $\frac{1}{2}$ dari permukaan media tertutup oleh koloni berwarna kuning, sekitar 200-500 koloni

(3+) : $\frac{1}{4}$ dari media tertutup oleh koloni berwarna kuning, dengan jumlah koloni antara 500-2000.

(4+) : Seluruh permukaan media tertutup koloni berwarna kuning, dengan jumlah koloni lebih dari 2000.

1. Sensitivitas berfungsi sebagai panduan dalam terapi antibiotik untuk mengidentifikasi antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan organisme yang ada dalam dahak.
2. Sitologi bertujuan untuk mendeteksi kemungkinan adanya keganasan (karsinoma) di paru-paru. Dahak mengandung sel-sel yang terlepas dari percabangan trakeobronkial, yang dapat mencakup sel-sel ganas. Kehadiran sel-sel ganas menunjukkan adanya karsinoma, tetapi tidak adanya sel-sel ini tidak membuktikan tidak adanya tumor, atau ada kemungkinan tumor tidak merusak sel.
3. Tes kuantitatif ini dilakukan pada sputum dalam rentang waktu 24 hingga 72 jam. Pemeriksaan ini harus dilakukan secara berkala untuk menentukan apakah sekresi yang keluar berupa saliva, lendir, nanah, atau bukan. Jika

sputum berwarna kuning-hijau, biasanya menunjukkan adanya infeksi pada jaringan paru (pneumonia). Untuk pemeriksaan kualitatif, pasien diberikan wadah khusus untuk mengumpulkan sekret. Wadah ini akan ditimbang setelah 24 jam, dan jumlah serta karakteristik isinya akan dicatat dan dianalisis (Retno, 2017).

2.5.3 Kategori penyakit tuberkulosis

Penyakit tuberkulosis memiliki beberapa kategori yaitu:

Kategori-1, ciri-ciri yaitu:

- a. Pasien baru Tuberkulosis paru bakteri tahan asam (BTA) positif
- b. Pasien baru Tuberkulosis paru bakteri tahan asam (BTA) negatif tetapi foto toraks positif
- c. Pasien Tuberkulosis ekstra paru

Kategori-2, ciri-ciri yaitu:

- a. Pasien kambuh yang pernah berobat dan sembuh, tetapi kambuh lagi
- b. Pasien gagal, sudah pernah diobati akan tetapi kurang disiplin
- c. Pasien pengobatannya terputus, sudah pernah diobati, tetapi berhenti sebelum sembuh (Retno, 2017).

2.5.4 Tindakan terapi tuberkulosis

Terapi tuberkulosis dilakukan dengan memperhatikan kategori penyakit tuberkulosis dari penderita yaitu:

- a. Kategori-1, diobati melalui dua fase dengan obat dikenal sebagai OAT KDT (Obat Antituberkulosis Kombinasi Dosis Tetap).

- i. Fase intensif, pemberian OAD KDT setiap hari dengan kode 2HRZE, yang merupakan kombinasi dari H-isoniazid, R-Rifampisin, Z-Pirazinamid, dan E-Etambutol selama 2 bulan.
 - ii. Pada fase lanjut, setelah pasien menyelesaikan pengobatan dengan fase intensif, pasien melanjutkan pengobatan dengan fase lanjut menggunakan OAT dengan kode 4RH3, yaitu kombinasi R-Rifampicin dan H-isoniazid selama 4 bulan. dengan administrasi 3 kali seminggu.
- b. Kategori-2, diobati melalui dua fase dengan obat OAT KDT
- i. Pada fase intensif, pemberian obat harian dengan kode 2HRZES, yang merupakan kombinasi dari H-isoniazid, R-Rifampicin, Z-Pirazinamid, E-Etambutol, dan S-Streptomycin selama 2 bulan.
 - ii. Fase lanjut, setelah pasien menyelesaikan pengobatan dengan fase intensif, lanjutkan pengobatan dengan fase lanjut menggunakan OAT dengan kode RH yaitu kombinasi R-Rifampicin dan H-isoniazid, selama 5 bulan diberikan 3 kali seminggu (Retno, 2017).

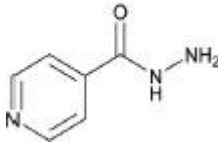
2.6 Obat-obat Sintetis Tuberkulosis

2.6.1 Isoniazid

Mekanisme kerja dari isoniazid adalah menghambat biosintesis asam mikolat yang merupakan komponen utama sel *Mycobacterium tuberculosis*. Resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap isoniazid (INH) berkembang pesat. Hal tersebut dapat ditunda atau dicegah jika isoniazid dikombinasikan dengan antimikobakteri lain, sangat efektif dalam mencegah permulaan terjadinya resistensi terhadap obat lain yang digunakan untuk mengobati tuberkulosis, efek

samping nya yaitu menyebabkan kerusakan hati, gangguan penglihatan, radang saraf (Depkes RI, 2016).

Tabel 2.1 Monografi isoniazid

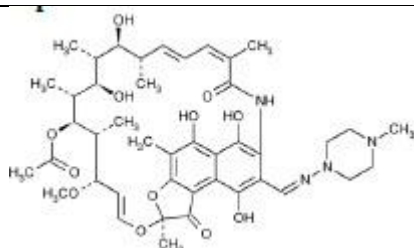
Nama Senyawa	Asam isonikotinat hidrazida
Struktur Kimia	
Rumus Molekul	$C_6H_7N_3O$
Berat Molekul	137,14 g/mol
Pemerian	Hablur atau serbuk hablur; putih atau tidak berwarna; tidak berbau, perlahan-lahan dipengaruhi oleh udara dan cahaya.
Kelarutan	Mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol; sukar larut dalam kloroform dan eter.
Mh	Antara 6,0 dan 7,5
Wadah dan Penyimpanan	Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

2.6.2 Rifampisin

Rifampisin merupakan salah satu obat anti-TB paling efektif. Rifampisin yang dikombinasi dengan pirazinamid dapat memperpendek waktu terapi dari 1 tahun menjadi 6 bulan. Rifampisin bersama isoniazid biasa digunakan sebagai dasar regimen terapi kombinasi obat. Mekanisme kerjanya berdasarkan perintangan spesifik dari satu enzim bakteri RNA-polymerase, sehingga sintesis RNA terganggu, efek sampingnya seperti menyebabkan penyakit kuning, toksik

untuk hati, menyebabkan mual, muntah, sakit buluh hati, kejang perut, diare dan gangguan sistem saraf pusat (Depkes RI, 2016).

Tabel 2.2 Monografi rifampisin

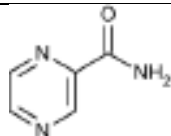
Nama Senyawa	<i>5,6,9,17,19,21-Heksahidroksi-23-metoksi-2,4,12,16,18,20,22-heptametil-8-[N-(4-metil-1-piperazinil)formimidoil]-2,7-(epoksipentadeka[1,11,13]trienimino]nafto[2,1-b]furan-1,11-(2H)-dion 21 asetat</i> [13292-46-1]
Struktur Kimia	
Rumus Molekul	C ₄₃ H ₅₈ N ₄ O ₁₂
Berat Molekul	822.95 g/mol
Pemerian	Serbuk hablur, coklat merah
Kelarutan	Sangat sukar larut dalam air; mudah larut dalam kloroform; larut dalam etil asetat dan dalam metanol.
pH	Antara 4,5 dan 6,5
Wadah dan Penyimpanan	Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

2.6.3 Pirazinamid

Mekanisme tindakan yang tepat masih belum diketahui. Berdasarkan pengubahannya menjadi asam pirazinat oleh enzim pyrazinamidase yang berasal dari basil TBC, efek sampingnya yang sering terjadi dan bahaya adalah kerusakan hati, menyebabkan asam urat, menyebabkan serangan encok, dapat menimbulkan

gangguan usus, dapat menimbulkan gangguan lambung, dapat menyebabkan anemia, demam, dapat menurunkan kadar gula darah (Depkes RI,2016).

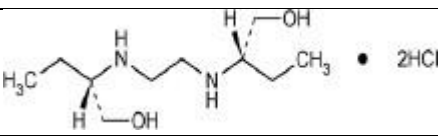
Tabel 2.3 Monografi pirazinamid

Nama Senyawa	Pirazinkarboksamida
Struktur Kimia	
Rumus Molekul	$C_5H_5N_3O$
Berat Molekul	123,11 g/mol
Pemerian	Serbuk hablur; putih hingga praktis putih; tidakberbau atau praktis tidak berbau
Kelarutan	Agak sukar larut dalam air; sukar larut dalam etanol; dalam eter dan dalam kloroform
Jarak Lebur	Antara 188° dan 191°
Wadah dan Penyimpanan	Dalam wadah tertutup baik

2.6.4 Etambutol

Mekanisme kerjanya berdasarkan penghambatan sintesa RNA pada kuman yang sedang membelah, juga menghindarkan terbentuknya mycolic acid dinding sel, efek sampingnya seperti dapat menyebabkan radang saraf mata atau gangguan penglihatan, buta warna, meningkatkan kadar asam urat (Depkes RI, 2016).

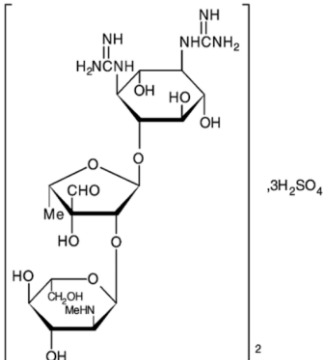
Tabel 2.4 Monografi etambutol

Nama Senyawa	Ethambutol Hydrochloride, (+)-2,2'-(Etilenadiimino)-di-1-butanol dihidroklorida
Struktur Kimia	
Rumus Molekul	$C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$
Berat Molekul	277,23 g/mol
Pemerian	Serbuk hablur, putih
Kelarutan	Mudah larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam metanol; sukar larut dalam eter dan dalam kloroform.
Wadah dan Penyimpanan	Dalam wadah tertutup baik

2.6.5 Streptomycin

Mekanisme kerjanya berdasarkan penghambatan sintesa protein kuman dengan jalan pengikatan pada RNA ribosomal, efek sampingnya menyebabkan ketulian permanen (Depkes RI, 2016).

Tabel 2.5 Monografi streptomycin

Nama Senyawa	O-2-Deoksi-2-metilamino-a-L-glukopiranosil (1-2). O-5-deoksi-3-C-formil-a-L-liksofuranosil-(1-4)-N1,N3-diamidino D-streptamina, sulfat (2:3) [3810-74-0] $(CH_{39}N_7O_{12})_2 \cdot 3H_2SO_4$
Struktur Kimia	
Rumus Molekul	$(CH_{39}N_7O_{12})_2 \cdot 3H_2SO_4$

Berat Molekul	1457 g/mol
Pemerian	Serbuk hablur, putih
Kelarutan	Mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam kloroform.
Wadah dan Penyimpanan	Dalam wadah tertutup baik

2.7 *Mycobacterium tuberculosis*

2.7.1 Sistematika bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Klasifikasi *Mycobacterium tuberculosis* sebagai berikut:

Kingdom : Bakteria
 Divisio : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes
 Ordo : Actinomycetes
 Famili : Mycobacteriaceae
 Genus : Mycobacterium
 Spesies : *Mycobacterium tuberculosis* (Misnadiarly, 2006)

2.7.2 Sifat-sifat umum *Mycobacterium tuberculosis*

Berbentuk batang tahan asam, aerobik, tidak bergerak, tidak bersimpai, tidak spora, pertumbuhannya lambat, tidak dapat tumbuh ataupun berkembang pada media pembenihan biasa, tetapi membutuhkan pembenihan kaya albumin seperti telur misalnya Lowenstein-Jensen atau pembenihan Ogawa (Agus, 2008).

2.7.3 Morfologi dan fisiologi *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri tuberculosis memiliki bentuk batang halus dengan ukuran 3 x 0,5 μm , dan kadang-kadang tampak seperti berbintil-bintil. Dalam pembenihan, bakteri ini memiliki bentuk berfilamen, tanpa membentuk spora atau simpai. Pada

pewarnaan Ziehl-Neelsen atau Tan Thiam Hok, bakteri ini tampak berwarna merah dengan latar belakang biru, sementara pada pewarnaan fluorokrom, bakteri ini akan memancarkan fluoresensi berwarna kuning-oranye (Irianti, 2016).

2.7.4 Sifat-sifat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri ini tumbuh secara aerob obligat, memperoleh energi dari oksidasi senyawa karbon yang sederhana. Karbon dapat merangsang pertumbuhannya, meskipun pertumbuhannya relatif lambat, dengan waktu pembelahan sekitar 20 jam. Suhu optimal untuk pertumbuhannya adalah 37°C, dan pada pembenihan, pertumbuhan koloni dapat terlihat setelah 2-3 minggu. Koloni yang terbentuk berbentuk cembung, kering, dan berwarna kuning gading (Irianti, 2016).

2.7.5 Daya tahan *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri tuberkulosis memiliki daya tahan yang lebih tinggi dibandingkan terhadap bakteri lainnya karena bersifat hidrofobik pada permukaan selnya. Sebagai contoh, hijau malachit bisa membunuh bakteri lain, namun tidak efektif terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, hal yang sama juga berlaku untuk asam dan alkali. Untuk membunuh *Mycobacterium tuberculosis*, dibutuhkan waktu 24 jam dengan penggunaan fenol 5% pada sputum kering. Bakteri ini juga dapat bertahan hidup selama 8-10 hari pada debu yang melekat pada sputum kering. Pengaruh pemanasan menunjukkan bahwa daya tahan *Mycobacterium tuberculosis* serupa dengan bakteri lain, sehingga pasteurisasi dapat membunuh kuman tuberkulosis (Irianti, 2016).

2.7.6 Perjalanan *Mycobacterium tuberculosis* di dalam tubuh

Perjalanan *Mycobacterium tuberculosis* dapat terjadi langsung melalui aliran limfe, darah, bronkus, dan saluran pencernaan. Awalnya, kuman menyebar

melalui saluran limfe menuju kelenjar getah bening. Kemudian, kuman masuk ke dalam aliran darah melalui ductus thoracicus dan menyebar ke organ tubuh lainnya. Selain itu, kuman dapat langsung memasuki vena dan aliran darah, atau pecah ke bronkus yang menyebar ke seluruh paru-paru, atau tertelan menuju saluran pencernaan (Irianti, 2016).

2.7.7 Kultur *Mycobacterium tuberculosis*

- a. Pembenihan cair dikerjakan pada medium asam oleat-albumin (Dubos), yang mengandung Tween-80. Pada medium ini, kuman akan tumbuh merata di seluruh permukaan, dan biasanya pertumbuhannya lebih cepat dibandingkan dengan medium padat (Misnadiarly, 2006).
- b. Pembenihan padat dilakukan pada media Lowenstein-Jensen, yang mengandung telur, gliserol, garam mineral, hijau malachit, dan biasanya ditambahkan penisilin untuk membunuh bakteri penyerta lainnya (Misnadiarly, 2006).

2.7.8 Uji potensi antituberkulosis terhadap *Mycobacterium tuberculosis*

- a. Uji potensi yang dilakukan pada bahan uji terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dikerjakan berdasarkan kepekaan bakteri tersebut terhadap bahan uji, yang dapat dilakukan dengan berbagai metode (Irianti, 2016).
 - i. Metode langsung
Sampel atau spesimen diproses langsung untuk dibiakkan pada medium yang mengandung obat, atau menggunakan metode tidak langsung dengan melakukan uji kepekaan setelah koloni tumbuh. Dalam pendekatan ini, spesimen diinokulasi pada medium kontrol

serta medium yang mengandung bahan uji. Metode ini memiliki beberapa kelemahan, yaitu:

1. Tidak berlaku untuk BTA (basil tahan asam) negatif dan BTA (basil tahan asam) positif
2. Kemungkinan adanya kontaminasi relatif tinggi
3. Pertumbuhan kuman yang tidak adekuat menyebabkan hasil meragukan
4. Lebih sulit di kalibrasi (bakteri yang mati dan hidup).

Metode ini memiliki keuntungan karena populasi bakteri yang berkembang lebih representatif dari yang kuat secara *in vivo*, serta 3-4 kali lebih cepat dibandingkan dengan metode tidak langsung (Agus, 2008).

ii. Metode Tidak Langsung

Metode tidak langsung memiliki beberapa keuntungan, antara lain: organisme yang digunakan diisolasi dari kultur, suspensi homogen diinokulasi, atau kultur cair dapat diinokulasi secara merata ke dalam medium kontrol dan medium yang mengandung bahan uji. Metode ini mencakup beberapa pendekatan, seperti metode absolut, metode rasio resistensi, dan metode proporsional (Agus, 2008).

iii. Metode absolut

1. Inokulasi spesimen pada medium kontrol dan medium dengan obat sebanyak 2.000 sampai 10.000 CFU/ml.
2. Digunakan beberapa konsentrasi

3. Resistensi dapat dilihat konsentrasi obat minimum (MIC) yang menghambat pertumbuhan koloni
 4. Konsentrasi kritis obat yang dapat menghambat pertumbuhan organisme "*wild type*" tetapi tidak menghambat "*mutant*"
- iv. Metode Rasio Resistensi ini membutuhkan beberapa set media yang mengandung dua kali lipat konsentrasi seri obat, menggunakan inokulum standar dari isolat uji dan isolat standar. Selain itu, digunakan standar R: rasio resistensi 28
 - v. Metode Proporsional umumnya menggunakan media Lowenstein-Jensen(LJ) atau Ogawa, yang dilakukan secara radiometrik menggunakan alat Bactec. Metode ini juga dapat dilakukan dengan mengamati "*end point inhibition*" pada media semi padat, atau dengan cara "*break point*" pada media cair seperti MGIT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*), NRA (*Nitrate Reduction Assay*). MODS(*multi organ distress syndrome*) (Agus, 2008).

Prinsip metode ini adalah kolorimetri untuk uji kepekaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* lini pertama dan kedua dengan mengamati kemampuan bakteri yang hidup dalam mereduksi indikator warna, sehingga terjadi perubahan warna. *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap bahan uji akan menunjukkan perubahan warna. Keuntungan dari metode ini adalah tidak memerlukan peralatan khusus, biaya yang rendah, mudah, dan cepat (dalam 8-10 hari).

2.7.9 Standardisasi uji kepekaan *Mycobacterium tuberculosis*

Standardisasi uji kepekaan *Mycobacterium tuberculosis* perlu dilakukan dalam rangka menjamin reliabilitas dan validitas hasil pemeriksaan. meliputi:

- a. Variasi potensi dan stabilitas obat yang digunakan (proses sterilisasi dan penyimpanan)
 - i. Pengurangan aktivitas obat ketika ditambahkan pada medium
 - ii. Penggunaan obat dengan konsentrasi kurang memadai
 - iii. Kesalahan interpretasi pada pembacaan hasil uji kepekaan
- b. Komponen uji kepekaan sumber daya manusia, fasilitas laboratorium,, bahan habis pakai, metode pemeriksaan, pemantapan mutu, pencatatan dan pelaporan.
- c. Tahapan Pemeriksaan: Pre Uji Kepekaan : sejak pengelolaan spesimen. proses biakan dan identifikasi (diperlukan 3-6 minggu), Persiapan Media: LJ + dan bahan uji, persiapan kuman (pengenceran koloni), inokulasi, inkubasi (3-4 minggu, pembacaan/interpretasi (Agus, 2008).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

3.1.1 Variabel penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Variabel bebasnya adalah berbagai konsentrasi ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol untuk menguji potensi antibakteri *Mycobacterium tuberculosis*, sementara variabel terikatnya adalah berbagai metode pengujian. Penelitian ini mencakup langkah-langkah seperti penyiapan sampel, pembuatan simplisia, pemeriksaan karakteristik simplisia, pembuatan ekstrak n-heksan dan etanol dari daun sirsak, uji skrining fitokimia, serta uji aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

3.2 Jadwal dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan April 2024 hingga Agustus 2024 di laboratorium fitokimia, laboratorium mikrobiologi, dan laboratorium penelitian Program Studi Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indah Medan.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: alat-alat gelas laboratorium, aluminium foil, api bunsen, benang wol, cawan petri, cawan porselen, corong, *cotton bud*, inkubator, jarum ose, kain kasa, kertas perkamen,

kompur, oven, penangas air, pipet tetes, pinset, gas, stamper dan mortir, spatula, timbangan, vakum putar.

3.3.2 Bahan-bahan yang digunakan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak yang diambil secara purposive, bersama dengan akuades, telur, dan bahan kimia berkualitas proanalisis dari E'Merck, yaitu etanol 80%, n-heksana, toluen, kloroform, media Lowenstein-Jensen (LJ), asam asetat glasial, asam klorida, asam nitrat, asam sulfat, benzen, bismut nitrat, etil asetat, isopropanol, iodium, kalium iodida, besi (III) klorida, kalium hidrogen fosfat, malachit *green*, biru metilen, fuchsin, magnesium sitrat, sodium glutamat, gliserin, toluen, rifampisin, etambutol, dan isoniazid.

3.4 Persiapan Sampel

3.4.1 Pengambilan sampel daun sirsak

Sampel yang di gunakan daun sirsak dilakukan secara purposife yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan serupa dari daerah lain, Jalan Pusara Hilir, Kecamatan Bagansiapiapi, Riau.

3.4.2 Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilaksanakan di *Herbarium Medanense* (MEDA) Departemen Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.

3.4.3 Pembuatan simplisia daun sirsak

Daun sirsak yang telah dikumpulkan kemudian disortir secara basah, dibersihkan dengan mencucinya dan ditiriskan. Selanjutnya, daun diiris dan

disebar di atas kertas, dibiarkan di ruangan terbuka yang tidak terkena sinar matahari langsung selama sekitar 10 hari. Setelah itu, daun dimasukkan ke dalam lemari pengering dengan suhu sekitar 60°C-70°C selama sekitar 3 hari hingga diperoleh simplisia yang kering, yang ditandai dengan kerapuhannya saat dipatahkan. Simplisia yang telah kering kemudian dihancurkan dan diuji untuk karakteristiknya.

3.5 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia pada penelitian ini meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, dan penetapan kadar air.

3.5.1 Pemeriksaan makroskopik simplisia

Uji makroskopik dilakukan dengan melakukan pengamatan secara langsung berdasarkan ciri-ciri organoleptik yang meliputi bau, rasa, warna dan bentuk dari daun segar (Handayani, 2020).

3.5.2 Pemeriksaan mikroskopik simplisia

Uji mikroskopik dilakukan dengan cara meletakkan serbuk simplisia daun sirsak di atas objek *glass*, ditetaskan aquadest dan kloralhidrat, ditutup menggunakan *cover glass*, di fiksasi di atas lampu spiritus, kemudian diamati di bawah mikroskop untuk melihat fragmen pengenal (Handayani, 2020).

3.5.3 Penetapan kadar air simplisia

Penetapan kadar air simplisia dilakukan menggunakan metode azeotropi (destilasi toluena). Alat yang digunakan meliputi labu alas bulat 500 ml, alat penampung, pendingin bola, tabung penghubung, dan tabung penerima yang berskala 0,1 ml.

Cara penetapan:

Ke dalam labu alas bulat dimasukkan 200 ml toluena dan 2 ml akuades, kemudian dilakukan distilasi selama 2 jam hingga seluruh air terdistilasi dan toluena jenuh. Setelah itu, toluena didinginkan dan sebagian disisihkan untuk pembilasan, sementara volume air pada tabung penerima dicatat sebagai volume awal air. Selanjutnya, 5 g serbuk simplisia daun sirsak yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam labu berisi toluena jenuh, lalu dipanaskan secara hati-hati selama 15 menit. Setelah toluena mulai mendidih, kecepatan tetesan diatur sekitar 2 tetes per detik hingga sebagian besar air tersuling. Kecepatan penyulingan kemudian ditingkatkan menjadi 4 tetes per detik. Setelah seluruh air tersuling, bagian dalam pendingin dibilas dengan toluena jenuh. Distilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima didinginkan hingga mencapai suhu kamar. Setelah air dan toluena terpisah dengan sempurna, volume air dibaca dengan ketelitian 0,1 ml sebagai volume air akhir. Selisih antara volume awal dan volume akhir digunakan untuk menghitung kandungan air dalam bahan yang diperiksa, yang dinyatakan dalam persen (Depkes RI, 1989).

% kadar air hitung dengan rumus:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{Volume akhir} - \text{Volume awal air}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

3.6 Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Pembuatan ekstrak dilakukan secara perkolasi menurut (Depkes RI, 2000), menggunakan pelarut etanol dan n-heksan caranya:

Sebanyak 1 kg serbuk simplisia daun sirsak dimasukkan ke dalam bejana tertutup berwarna gelap, ditambahkan pelarut n-heksan sampai semua simplisia terendam sempurna. Ditutup dan dibiarkan selama 3 jam terlindung dari cahaya.

Kemudian dipindahkan masa sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan hati-hati, dituangi pelarut n-heksan secukupnya sampai cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih ada selapis n-heksan ditutup perkolator, dibiarkan selama 24 jam.

Selanjutnya, cairan diatur untuk menetes dengan kecepatan 1 ml per menit, lalu ditambahkan n-heksan secukupnya, dan kecepatan tetesan larutan yang ditambahkan disesuaikan dengan kecepatan tetesan perkolat, sehingga selalu ada lapisan cairan etanol di atas simplisia. Perkolasi dihentikan ketika perkolat yang keluar sudah tidak berwarna lagi, sehingga diperoleh ekstrak n-heksan.

Kemudian simplisia diperas menggunakan kain kasa. Ampas simplisia kemudian dilakukan perkolasi dengan pelarut etanol hingga seluruh simplisia terendam dengan sempurna. Perkolator ditutup kemudian dibiarkan selama 3 jam terhindar dari cahaya. Setelah itu, massa simplisia dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, sambil ditekan secara perlahan, dan dituangi pelarut etanol secukupnya hingga cairan mulai menetes, dengan memastikan bahwa masih ada lapisan etanol di atas simplisia. Perkolator kemudian ditutup dan dibiarkan selama 24 jam.

Selanjutnya, cairan diatur agar menetes dengan kecepatan 1 ml per menit, kemudian ditambahkan etanol, dan kecepatan tetesan larutan yang ditambahkan disesuaikan dengan kecepatan tetesan perkolat, sehingga selalu ada lapisan etanol di atas simplisia. Perkolasi dihentikan ketika perkolat yang keluar sudah tidak berwarna lagi, sehingga diperoleh ekstrak etanol.

Hasil dari masing-masing penyarian yang diperoleh dipekatkan dengan alat vakum putar (*rotary evaporator*) diperoleh ekstrak kental, kemudian

dikeringkan dengan pengeringan dingin menggunakan alat pengering *freeze dryer* (suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam, sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksan dan ekstrak kental etanol.

3.7 Pembuatan Larutan Pereaksi

3.7.1 Pereaksi Mayer

Larutan raksa (II) klorida 2,266 mg sebanyak 60 ml dicampurkan dengan 10 ml larutan kalium iodida 50 mg, kemudian ditambahkan air suling hingga volume total mencapai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.7.2 Pereaksi Dragendorff

Larutan bismut (III) nitrat 40 mg dalam 20 ml asam nitrat dicampurkan dengan 50 ml larutan kalium iodida 54 mg, kemudian dibiarkan hingga terpisah dengan sempurna. Setelah itu, lapisan jernihnya diambil dan diencerkan dengan air suling hingga volume mencapai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.7.3 Pereaksi Bouchardat

Sebanyak 4 gram kalium iodida dilarutkan dalam sedikit air suling, kemudian ditambahkan 2 gram iodium. Setelah larut sepenuhnya, larutan tersebut ditambahkan air suling hingga mencapai volume 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.7.4 Pereaksi Molisch

Sebanyak 3 gram α -naftol dilarutkan dalam 0,5 N asam nitrat hingga volume larutan mencapai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.7.5 Larutan besi (III) klorida

Sebanyak 4,5 gram besi (III) klorida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air suling hingga mencapai volume 100 ml selanjutnya disaring (Depkes RI, 1995).

3.7.6 Larutan timbal asetat

Sebanyak 15,17 gram timbal asetat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air bebas karbon dioksida hingga volume mencapai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.7.7 Larutan Liebermann - Burchard

Sebanyak 20 ml asam asetat pekat dicampurkan dengan 1 ml asam sulfat pekat, kemudian larutan tersebut dibuat baru (Depkes RI, 1995).

3.7.8 Larutan natrium hidroksida 2 N

Sebanyak 8 gram natrium hidroksida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air bebas CO₂ hingga volume mencapai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.7.9 Larutan asam klorida 2 N

Sebanyak 16,6 ml asam klorida pekat ditambahkan dengan air suling hingga volume mencapai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.7.10 Larutan asam sulfat 2 N

Sebanyak 5,4 ml asam sulfat pekat ditambahkan dengan air suling hingga volume mencapai 100 ml (Depkes RI, 1995).

3.8 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun segar, serbuk simplisia, ekstrak n-heksan

dan ekstrak etanol daun sirsak meliputi alkaloid, glikosida, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid (Depkes RI, 1995).

3.8.1 Pemeriksaan alkaloid

Sebanyak 0,5 gram daun sirsak segar, simplisia, ekstrak n-heksan, dan ekstrak etanol masing-masing ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air suling. Campuran dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk percobaan berikutnya:

- a. Sebanyak 1 ml filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning jika mengandung alkaloid.
- b. Sebanyak 1 ml filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat hingga hitam jika mengandung alkaloid.
- c. Sebanyak 1 ml filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, akan terbentuk endapan berwarna merah hingga coklat jika mengandung alkaloid.

Jika 2 dari 3 percobaan positif (+) maka dikatakan positif alkaloid.

3.8.2 Pemeriksaan glikosida

Sebanyak 3 gram daun sirsak segar, simplisia, ekstrak n-heksan, dan ekstrak etanol masing-masing disari dengan 30 ml campuran 7 bagian etanol 96% dan 3 bagian akuades. Kemudian, ditambahkan asam sulfat pekat dan direfluks selama 10 menit, lalu didinginkan dan disaring. Sebanyak 20 ml filtrat diambil, kemudian ditambahkan 10 ml akuades dan 10 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, didiamkan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat disari dengan 20 ml

campuran kloroform dan isopropanol (3:2), kemudian diuji sesuai prosedur berikut:

a. Uji senyawa gula

Sebanyak 1 ml lapisan atas (sari air) diambil dan diuapkan di atas penangas air. Setelah penguapan selesai, sisa larutan ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes larutan pereaksi Molish, kemudian ditambahkan hati-hati asam sulfat pekat. Jika terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan, reaksi ini menunjukkan adanya ikatan gula.

Sebanyak 1 ml lapisan atas (sari air) diambil dan diuapkan di atas penangas air. Setelah penguapan, ditambahkan larutan Fehling A dan Fehling B dengan perbandingan 1:1, kemudian dipanaskan. Terbentuknya endapan berwarna merah bata menandakan adanya gula pereduksi (Ditjen POM, 1995).

b. Uji senyawa non gula

Sebanyak 1 ml lapisan bawah (sari pelarut organik) diambil dan diuapkan di atas penangas air dengan suhu tidak melebihi 60°C. Setelah penguapan, sisa larutan dilarutkan dalam 2 ml metanol. Kemudian, ditambahkan 20 tetes asam asetat glasial dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Bouchard). Jika terjadi perubahan warna biru, hijau, merah ungu, atau ungu, maka hasilnya positif untuk nongula (Depkes RI, 1995).

3.8.3 Pemeriksaan flavonoida

Sebanyak 0,5 gram daun sirsak segar, simplisia, ekstrak n-heksan, dan ekstrak etanol masing-masing ditambahkan 10 ml metanol, kemudian direfluks selama 10 menit. Setelah itu, disaring dalam keadaan panas menggunakan kertas saring. Setelah dingin, ditambahkan 5 ml eter minyak tanah, dikocok dengan hati-

hati, lalu didiamkan sebentar hingga terjadi pemisahan. Lapisan metanol diambil dan diuapkan pada suhu 40°C. Sisa larutan dilarutkan dalam 5 ml etil asetat, disaring, dan filtrat yang dihasilkan digunakan untuk percobaan berikut:

- a. Sebanyak 1 ml filtrat diuapkan hingga kering, kemudian sisa larutan dilarutkan dalam 1-2 ml etanol 95%. Setelah itu, ditambahkan 0,5 gram serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2 N, lalu didiamkan selama 5 menit. Terbentuknya warna merah intensif menandakan adanya senyawa flavonoida.
- b. Sebanyak 1 ml filtrat diuapkan hingga kering, sisa larutan dilarutkan dalam 1 ml etanol 95%, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 10 ml asam klorida pekat. Jika terbentuk warna merah jingga hingga merah ungu, maka menunjukkan adanya senyawa flavonoida (Depkes RI, 1995).

3.8.4 Pemeriksaan saponin

Sebanyak 0,5 gram daun sirsak segar, simplisia, ekstrak etanol, dan ekstrak n-heksan daun sirsak masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas dan didinginkan. Selanjutnya, dikocok kuat selama 10 detik. Saponin dinyatakan positif jika terbentuk busa yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit dengan ketinggian 110 cm, dan busa tersebut tidak hilang meskipun ditambahkan 1 tetes asam klorida 2 N (Depkes RI, 1995).

3.8.5 Pemeriksaan steroid/triterpenoid

Sebanyak 1 gram daun sirsak segar, simplisia, ekstrak n-heksan, dan ekstrak etanol masing-masing dimaserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam. Setelah proses maserasi, hasilnya disaring, dan filtratnya diuapkan dalam cawan penguap.

Pada sisa filtrat, ditambahkan 2 tetes pereaksi Liebermann-Burchard. Jika terbentuk warna merah atau ungu yang kemudian berubah menjadi biru atau biru hijau, ini menunjukkan adanya senyawa steroida atau triterpenoid bebas (Depkes RI, 1995).

3.8.6 Pemeriksaan tanin

Sebanyak 1 gram daun sirsak segar, simplisia, ekstrak n-heksan, dan ekstrak etanol masing-masing dididihkan dalam 100 ml air suling selama 3 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Pada filtrat yang diperoleh, ditambahkan 1-2 tetes larutan besi (III) klorida 1%. Jika terbentuk warna hijau kebiruan atau biru kehitaman, hal ini menunjukkan adanya senyawa tanin (Depkes.RI, 1995).

3.9 Persiapan Bahan Pereaksi dan Media Bakteri

3.9.1 Pembuatan malachit *green* 2%

Sebanyak 10 gram malachit green ditimbang dan dimasukkan ke dalam mortar bersih, kemudian ditambahkan sedikit alkohol absolut dan digerus. Larutan ini kemudian dilarutkan dalam 500 ml akuades dan dipanaskan pada penangas air dengan suhu 56°C, dengan botol terbuka selama 1 jam (hingga bau alkohol hilang). Setelah itu, botol ditutup dan disimpan (Agus, 2008).

3.9.2 Pembuatan pereaksi untuk pewarnaan Zeihl-Nelsen

Pembuatan pereaksi ini meliputi:

a. Larutan fenol 5%

Ditimbang 5 gram fenol kemudian dilarutkan dalam sampai 100 ml akuades.

b. Karbol fuchsin 0,3%

Sebanyak 3 gram fuchsin dilarutkan dalam 100 ml alkohol absolut, kemudian 10 ml dari larutan tersebut dipipet dan ditambahkan dengan 90 ml larutan fenol 5%. Larutan yang dihasilkan disimpan dalam botol berwarna gelap (Agus, 2008).

c. Larutan asam-alkohol 3%

Sebanyak 30 ml asam klorida pekat kemudian dicampurkan dengan 970 ml alkohol absolut.

d. Metilen *blue* 0,3%

Sebanyak 3 gram metilen *blue* dituangkan ke dalam cawan porselen, tambahkan beberapa tetes alkohol kemudian gerus, lalu dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan tambahkan akuades sampai 100 ml (Agus, 2008).

3.9.3 Pembuatan media Lowenstein-Jensen (LJ)

Media Lowenstein-Jensen (LJ) digunakan untuk kultur bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

a. Komposisi media Lowenstein-Jensen (LJ)

i. Larutan garam

Kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4)	3 gram
Sodium glutamat	1 gram
Akuades	100 ml

Kalium dihidrogen fosfat dan sodium glutamat dilarutkan dalam akuades dengan pemanasan menggunakan penangas air dengan suhu sekitar 90°C hingga larut, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Agus, 2008).

ii. Pembuatan campuran gliserol- Malachit *green* 2% dengan komposisi:

Gliserol	6 ml
Malachir green 2%	6 ml
Telur yang dikocok	200 ml

b. Persiapan larutan telur

Kulit telur dibersihkan dengan disikat menggunakan sabun, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan dalam keranjang. Permukaan kulit telur diusap dengan kapas yang telah dibasahi alkohol. Telur kemudian dipecahkan satu per satu, isinya ditampung di cawan petri steril untuk memeriksa kualitasnya, dan lembaga telur dibuang. Selanjutnya, telur dikumpulkan dalam gelas kimia, dikocok hingga homogen menggunakan sumpit, lalu disaring melalui dua lapis kain kasa steril dan dimasukkan ke dalam gelas ukur steril (Agus, 2008).

c. Pembenihan telur yang belum dimasak

Gliserol dan larutan hijau malachit 2% dicampurkan ke dalam larutan garam, lalu didinginkan hingga mencapai suhu ruangan. Campuran diaduk perlahan sampai homogen. Setelah itu, larutan telur yang telah dikocok dimasukkan secara perlahan melalui dinding leher labu Erlenmeyer untuk mencegah pembentukan busa. Kemudian dikocok perlahan dan dibiarkan selama 30 menit (Agus, 2008).

d. Dispersasi media mentah utuh

Sebanyak 6-7 ml media telur mentah yang telah dikocok dituangkan ke dalam tabung melalui dindingnya untuk mencegah pembentukan busa. Selanjutnya, tabung-tabung berisi media diletakkan miring di atas rak tabung,

kemudian media dikentalkan menggunakan inspikator pada suhu 90°C selama 1 jam (Agus, 2008).

Setelah proses pengentalan dalam inspikator selesai, tabung-tabung dibiarkan mendingin hingga mencapai suhu ruang. Selanjutnya, tabung-tabung tersebut dimasukkan ke dalam kantong plastik, diikat, dan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 2-8°C dalam posisi tegak hingga siap digunakan. Media ini dapat bertahan hingga satu bulan dalam kondisi penyimpanan yang tepat (*Japan International Cooperation Agency*, 1987).

3.9.4 Pembuatan media LJ yang mengandung bahan uji

Prosedur pembuatan media dilakukan dengan langkah yang sama seperti pada pembuatan media Lowenstein-Jensen (LJ) untuk pemeriksaan sebelumnya, tetapi menggunakan 1 gram kalium dihidrogen fosfat. Sebelum proses pengentalan, dilakukan penambahan bahan ke dalam masing-masing dua tabung ganda, yaitu rifampisin, etambutol, isoniazid (INH) sebagai media pembanding; ekstrak daun sirsak dengan berbagai konsentrasi sebagai media bahan uji; dan dua tabung tanpa penambahan bahan uji sebagai media blanko (*Japan International Cooperation Agency*, 1987).

3.10 Persiapan Bahan Obat (Pembanding) dan Bahan Uji

Dalam uji aktivitas antimikroba ini, bahan uji dan obat pembanding dicampur dalam media Lowenstein-Jensen (LJ) dengan berbagai konsentrasi untuk mengevaluasi efektivitasnya terhadap mikroorganisme. Setiap bahan obat dilarutkan dan diencerkan hingga konsentrasi yang diinginkan. Tujuannya adalah menentukan ambang batas minimal konsentrasi efektif bahan uji terhadap bakteri

target dan membandingkannya dengan efektivitas obat standar (*Japan International Cooperation Agency*, 1987).

Bahan obat dan bahan uji yang ditambahkan ke dalam media Ogawa dibuat dengan berbagai konsentrasi sebagai berikut:

a. Rifampisin

Sebanyak 200 mg rifampisin ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 5 ml propilen glikol. Larutan tersebut diencerkan dalam labu takar 50 ml menggunakan akuades hingga mencapai tanda garis, sehingga diperoleh larutan rifampisin dengan konsentrasi 4000 $\mu\text{g/ml}$.

b. Etambutol

Sebanyak 100 mg etambutol ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 5 ml propilen glikol. Larutan tersebut diencerkan dalam labu takar 100 ml menggunakan akuades hingga mencapai tanda garis, sehingga dihasilkan larutan etambutol dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$.

c. Isoniazid

Sebanyak 25 mg isoniazid ditimbang dan dilarutkan dalam 5 ml propilen glikol, kemudian diencerkan dalam labu takar 50 ml menggunakan akuades hingga mencapai tanda garis, sehingga diperoleh larutan isoniazid dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya, 2 ml larutan tersebut dipipet dan diencerkan kembali dalam labu takar 50 ml dengan akuades hingga tanda garis, menghasilkan larutan dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$.

d. Sebanyak 2,5 gram ekstrak etanol daun sirsak ditimbang dan dilarutkan dalam etanol hingga volumenya mencapai 10 ml, sehingga dihasilkan larutan ekstrak etanol daun sirsak dengan konsentrasi 250 mg/ml.

- e. Ditimbang 2,0 gram ekstrak etanol daun sirsak ditimbang dan dilarutkan dalam etanol hingga volumenya mencapai 10 ml, sehingga dihasilkan larutan ekstrak etanol daun sirsak dengan konsentrasi 200 mg/ml.
- f. Ditimbang 1,0 gram ekstrak etanol daun sirsak ditimbang dan dilarutkan dalam etanol hingga volumenya mencapai 10 ml, sehingga diperoleh larutan ekstrak etanol daun sirsak konsentrasi 100 mg/ml.
- g. Ditimbang 500 mg ekstrak etanol daun sirsak dilarutkan dalam etanol sampai 10 ml, diperoleh larutan ekstrak etanol daun sirsak konsentrasi 50 mg/ml.
- h. Ditimbang 2,5 gram ekstrak n-heksan daun sirsak dilarutkan dalam etanol sampai 10 ml, diperoleh larutan ekstrak n-heksan daun sirsak konsentrasi 250 mg/ml.
- i. Ditimbang 2,0 gram ekstrak n-heksan daun sirsak dilarutkan dalam etanol sampai 10 ml, diperoleh larutan ekstrak n-heksan daun sirsak konsentrasi 200 mg/ml.
- j. Ditimbang 1,0 gram ekstrak n-heksan daun sirsak dilarutkan dalam etanol sampai 10 ml, diperoleh larutan ekstrak n-heksan daun sirsak konsentrasi 100 mg/ml.
- k. Ditimbang 500 mg ekstrak etanol daun sirsak dilarutkan dalam etanol sampai 10 ml, diperoleh larutan ekstrak n-heksan daun sirsak konsentrasi 50 mg/ml.

Tabel 3.1 bahan uji *Mycobacterium tuberculosis*

No	Bahan obat (kontrol)/bahan uji	Konsentrasi bahan obat/bahan uji	Jumlah bahan diambil (ml)	Jumlah media LJ	Konsentrasi bahan dalam media LJ
1.	Rifampisin	4000 µg/ml	1	100	40 µg/ml

2.	Etambutol	1000 µg/ml	1	100	10 µg/ml
3.	Isoniazid	20 µg/ml	1	100	0,2 µg/ml
4.	EEDS	250 mg/ml	5	50	25 mg/ml
5.	EEDS	200 mg/ml	5	50	20 mg/ml
6.	EEDS	100 mg/ml	5	50	10 mg/ml
7.	EEDS	50 mg/ml	5	50	5 mg/ml
8.	ENDS	250 mg/ml	5	50	25 mg/ml
9.	ENDS	200 mg/ml	5	50	20 mg/ml
10.	ENDS	100 mg/ml	5	50	20 mg/ml
11.	ENDS	50 mg/ml	5	50	5 mg/ml

Keterangan:

EEDS: Ekstrak etanol daun sirsak

ENDS: Ekstrak n-heksan daun sirsak

Lj : Lowenstein jensen

Tabel diatas menjadi acuan dosis digunakan dalam percobaan yang akan di ujikan, agar mendapatkan perbandingan dosis berapa saja yang efektif.

3.11 Uji Potensi Antituberkulosis

3.11.1 Pengambilan spesimen sputum

Spesimen sputum yang diambil berupa sputum yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* dari 3 orang pasien yang positif terinfeksi Tuberkulosis di Rumah Sakit Haji Medan, kemudian sputum yang diperoleh dimasukkan ke dalam wadah steril yang akan digunakan sebagai sampel pada uji efektivitas antituberkulosis.

3.11.2 Identifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

Sebelum digunakan, bakteri yang diperoleh dari sampel spesimen dahak pasien Tuberkulosis terlebih dahulu diidentifikasi menggunakan metode

pewarnaan Ziehl-Nelsen untuk memastikan keberadaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan langkah-langkah sebagai berikut:

Sputum yang ditempelkan pada objek kaca difiksasi dan diberi larutan karbol fuchsin 0,3%. Kemudian, objek kaca dipanaskan sekitar 15 cm di atas api bunsen hingga muncul asap selama 10 menit. Setelah itu, objek kaca dicuci dengan air mengalir, lalu diberi tetesan asam-alkohol 3%. Selanjutnya, objek kaca dicuci lagi dengan air mengalir hingga bersih. Kemudian, diwarnai dengan larutan metilen blue 0,3%, dibilas dengan air mengalir, dan dikeringkan menggunakan tisu. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop, keberadaan basil berwarna merah menunjukkan adanya *Mycobacterium tuberculosis* (Misnadiarly, 2006).

3.11.3 Kultivasi dan isolasi *Mycobacterium tuberculosis* pada

media Lowenstein-Jensen

Sputum yang telah diidentifikasi dan memberi hasil positif *Mycobacterium tuberculosis* yang berasal dari beberapa penderita Tuberkulosis diambil untuk dilanjutkan dan digunakan sebagai bakteri uji, yaitu dilakukan kultivasi dan isolasi untuk selanjutnya hasil isolasi ini digunakan untuk pengujian efektivitas bahan obat sebagai antituberkulosis dengan cara:

Spesimen sputum dari tempat penampungan dipindahkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml dan dituangkan lebih kurang 4 ml larutan natrium hidroksida 4% kemudian disimpan tabung tersebut di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 15 menit untuk melarutkan spesimen.

Setelah itu, tabung diangkat dari inkubator dan diaduk perlahan untuk memastikan homogenitas. Sebanyak 0,1 ml bahan yang telah diolah dipipet dan

dimasukkan ke dalam dua tabung kultur yang berisi media LJ 3%. Bahan inokulasi harus terdistribusi secara merata di seluruh permukaan media.

Tabung-tabung tersebut diletakkan pada rak yang dimiringkan dengan tutup yang sedikit terbuka, kemudian ditempatkan di dalam inkubator pada suhu 37°C. Tabung harus ditutup rapat saat permukaan media kering, dan inkubasi dilanjutkan hingga minimal 4 minggu.

Koloni yang tumbuh diamati, dan *Mycobacterium tuberculosis* dianggap positif jika koloni yang terbentuk pada permukaan media berwarna kuning atau oranye. Koloni ini kemudian digunakan sebagai bakteri uji (*Japan International Cooperation Agency*, 1987).

3.12 Pembuatan Suspensi Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Tiga tetes akuades steril ditambahkan ke dalam gelas pencampur, lalu satu kawat ose yang berisi koloni dari media kultur dipindahkan ke dalam gelas tersebut. Koloni dihancurkan atau digiling dengan memutar alat hingga homogen, kemudian ditambahkan 7 ml akuades steril. Dari larutan ini, 0,1 ml diambil dan diencerkan dengan 9,9 ml akuades steril, sehingga diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi sekitar 0,01 mg/ml (*Japan International Cooperation Agency*, 1987).

3.13 Inokulasi Suspensi Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Sebanyak 0,1 ml suspensi bakteri dengan konsentrasi 0,01 mg/ml diinokulasi ke dalam tiga tabung yang berisi media LJ, masing-masing mengandung bahan pembanding dan bahan uji dengan berbagai konsentrasi. Suspensi bakteri diratakan di seluruh permukaan media dan diinkubasi pada suhu

37□ selama 6 minggu. Pertumbuhan bakteri diamati setiap minggu berdasarkan kriteria pembacaan:

- (-) : tidak ada pertumbuhan berwarna hijau
- (1+) : terdapat sedikit koloni berwarna kuning, sekitar 1-200 koloni
- (2+) : $\frac{1}{2}$ dari permukaan media tertutup oleh koloni berwarna kuning, sekitar 200-500 koloni
- (3+) : $\frac{1}{4}$ dari media tertutup oleh koloni berwarna kuning, dengan jumlah koloni antara 500-2000.
- (4+) : Seluruh permukaan media tertutup koloni berwarna kuning, dengan jumlah koloni lebih dari 2000.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil identifikasi sampel

Daun sirsak yang digunakan dalam penelitian ini telah melalui proses determinasi untuk memastikan keaslian tanaman dan mengurangi potensi kesalahan dalam pengambilan bahan atau sampel. Identifikasi tumbuhan dilakukan di *Herbarium Medanense* (MEDA), Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan. Hasil identifikasi mengonfirmasi bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.). Hasil identifikasi tumbuhan dapat dilihat pada Lampiran 1, halaman 66.

4.2 Hasil Pemeriksaan Makroskopik Daun Sirsak

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan mengamati kondisi fisik daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang digunakan dalam penelitian secara langsung. Berdasarkan pengamatan makroskopik, daun sirsak memiliki bentuk lonjong dengan warna hijau mengkilap, susunan tulang daun yang menyirip, dan ketebalan daun yang cukup. Permukaan daun tertutup bulu halus yang rapat. Ukuran daun sirsak berkisar antara panjang 8-13 cm dan lebar 3-7 cm, serta memiliki bau khas. Gambar pemeriksaan makroskopik daun rimbang dapat dilihat pada Lampiran 2, halaman 67.

4.3 Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Daun Sirsak

Mikroskopik simplisia daun sirsak terdapat epidermis atas terdiri dari satu lapis sel berbentuk empat persegi, stomata, terdapat rambut penutup, terdapat juga

sel batu dan serabut xilem floem. Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia daun sirsak dapat dilihat lampiran 3, halaman 68.

4.4 Hasil Pemeriksaan Kadar Air

Pemeriksaan kadar air simplisia merupakan salah satu bagian dari karakterisasi simplisia. Hasil pemeriksaan kadar air serbuk simplisia daun sirsak menggunakan metode azeotrop menunjukkan kadar air sebesar 5%. Hasil ini memenuhi persyaratan kadar air simplisia menurut Materia Medika Indonesia, yang menetapkan batas maksimal kadar air sebesar 10%. Kadar air yang ditetapkan bertujuan untuk menjaga kualitas senyawa yang terkandung dalam simplisia. Simplisia dengan kadar air tinggi lebih rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme dan dapat menghindari pertumbuhan jamur atau kapang (Depkes RI, 1995). Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia daun sirsak dapat dilihat lampiran 5, hal 70.

4.5 Hasil Ekstraksi

Hasil ekstraksi simplisia daun sirsak sebanyak 1000 gram dengan metode perkolasi menggunakan pelarut *n*-heksan menghasilkan ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dengan berat 33 gram. Sementara, ekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% menghasilkan ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dengan berat 157 gram. Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia daun sirsak dapat dilihat Lampiran 7, hal 72.

4.6 Hasil Skrining Fitokimia

Dari hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan terhadap daun segar sirsak, simplisia sirsak, ekstrak *n*-heksan daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirsak. Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol, daun segar dan

simplisia daun sirsak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid, dan glikosida. ekstrak etanol mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan glikosida. Sedangkan ekstrak n-heksan hanya mengandung alkaloid, dan steroid . Hal ini kemungkinan terjadi karena penyari etanol dapat menarik metabolit sekunder yang ada pada simplisia sedangkan ekstrak n-heksan yang bersifat non polar hanya dapat menarik metabolit sekunder yang sesama non polar, dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia Daun sirsak, simplisia sirsak , ekstrak *n*-heksan, dan ekstrak etanol.

No	Pemeriksaan Skrining Fitokimia	Hasil			
		Daun sirsak segar	Simplisia daun sirsak	Ekstrak <i>n</i> - heksan daun sirsak	Ekstrak Etanol daun sirsak
1.	Alkaloid	+	+	+	+
2.	Flavonoid	+	+	—	+
3.	Saponin	+	+	—	+
4.	Tanin	+	+	—	+
5.	Triterpenoid/Steroid	+	+	+	+
6.	Glikosida	+	+	—	+

Keterangan: + : mengandung golongan senyawa

- : tidak mengandung golongan senyawa

Berdasarkan tabel 4.1 diatas dari hasil uji fotokimia, menunjukkan bahwa daun segar sirsak, simplisia, dan ekstrak etanol daun sirsak memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan glikosida. dalam pereaksi alkaloid endapan dihasilkan karena terjadi pembentukan kompleks kalium alkaloid. Alkaloid memiliki pasangan elektron bebas pada atom nitrogen yang akan berikatan dengan ion kalium, flavonoid perubahan warna larutan

menjadi berwarna jingga karena senyawa kompleks dari ion magnesium dengan asam klorida dan senyawa fenol yang ada di dalam tumbuhan. Tanin terjadi perubahan warna karena terjadi reaksi dari FeCl_3 karena tanin termasuk polifenol, saponin timbul buih disebabkan karena glikosida memiliki kemampuan memperoleh buih pada air lalu mengalami hidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya. steroid mengalami oksidasi yang akan membentuk ikatan rangkap dan terjadi perubahan warna (Mayasari, 2018).

4.7 Hasil Identifikasi Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan cara pewarnaan Zeihl-Nelsen, pewarnaan ini dilakukan agar dapat melihat apakah ada atau tidak bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada sputum pasien yang akan digunakan. Hasil pewarnaan bakteri tersebut dinyatakan positif, dengan pengecekan menggunakan mikroskop menggunakan pembesaran $\times 100$ terdapat bakteri berwarna merah yang berbentuk basil/batang, Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia daun sirsak dapat dilihat lampiran 12, hal 77.

4.8 Hasil Uji Aktivitas Anti Tuberkulosis

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dibandingkan ekstrak n-heksan, kemungkinan karena senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin lebih banyak ter ekstraksi oleh etanol. Sebelum penambahan bahan uji, media Lowenstein-Jensen berwarna hijau akibat malachite *green* 2% sebagai indikator. Setelah penambahan bahan uji, tidak ada perubahan warna pada media, yang tetap hijau seperti sebelum diberikan bahan uji, sebagaimana terlihat pada gambar 4.1.

Ekstrak	25 mg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	20 mg/ml	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	-
	10 mg/ml	-	-	-	+1	-	-	-	+2	-	-	-	+2
	5 mg/ml	-	-	-	+2	-	-	-	+2	-	-	-	+2

Keterangan: + : terinfeksi bakteri

- : tidak terinfeksi bakteri

Berdasarkan hasil data pengamatan di atas pada uji antituberkulosis dilakukan dengan menggunakan *Mycobacterium tuberculosis* yang diambil dari sukarelawan yang terinfeksi Tuberkulosis, yang dikultur pada media Ogawa, dengan menggunakan obat sintetis antituberkulosis rifampisin, etambutol, isoniazid sebagai kontrol positif dan sebagai kontrol negatif digunakan media yang tidak ditambahkan obat antituberkulosis. Ke tiga spesimen di atas menunjukkan semuanya resisten terhadap obat sintetis antituberkulosis ditandai dengan pertumbuhan bakteri, pada minggu pertama ketiga spesimen sudah menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri positif +1, pada minggu kedua pertumbuhan bakteri lebih banyak yaitu positif +3, pada minggu ke 3 dan 4 pertumbuhan bakteri lebih banyak dan sangat meningkat yaitu positif +4, resisten terhadap obat sintetis antituberkulosis kemungkinan hal ini terjadi karena pasien tersebut lalai dalam meminum obat, tidak patuh pada penggunaan penggunaan obat, pemakaian obat tidak tepat waktu dan teratur, dan saat ini penggunaan obat tuberkulosis sintetis secara tunggal sudah sangat jarang, sedangkan pada ekstrak n-heksan dari minggu pertama sampai minggu ke empat sudah menunjukkan terjadinya resisten, ini menunjukkan bahwa ekstrak n heksan tidak bisa digunakan sebagai anti bakteri, tetapi berbeda dengan ekstrak etanol dari minggu pertama sampai minggu ke tiga tidak terjadi pertumbuhan bakteri, tetapi pertumbuhan bakteri baru terjadi pada minggu ke 4. pada dosis 5mg/ml ketiga

spesimen mengalami pertumbuhan positif +2, pada dosis 10mg/ml pada spesimen A hanya positif +1 tetapi pada spesimen B dan C positif +2, pada dosis 20mg/ml hanya spesimen B saja yaitu positif +1, pada dosis 25mg/ml dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memberikan efek yang optimal, karena ekstrak etanol .

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai uji potensi antituberkulosis ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dapat disimpulkan bahwa:

- ## 5.2 Saran

Disarankan pada penelitian selanjutnya untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun sirsak untuk lebih dikembangkan dan untuk melanjutkan atau mengembangkan daun sirsak.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, S. (2008). Modul-Kultur dan Uji Kepekaan M tuberculosis terhadap Obat Anti Tuberkulosis Lini Pertama.
- Artanti, A. N., & Lisnasari, R. (2018). Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Ethanol Daun Family Solanum Menggunakan Metode Reduksi Radikal Bebas DPPH. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2,62-69.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989. *Materia medika Indonesia Edisi Keempat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995. *Materia Medika Indonesia. Jilid VI*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Jakarta.
- Depkes, R. I. (2005). Pharmaceutical care untuk penyakit Tuberkulosis. *Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Febrianti. Dwi Rizki. Rakhmadhan Niah.2018. Analisis Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Anona muricata L.*) Pada Mencit Jantan Secara In Vivo. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. Hal 305
- Ghozaly, M. R., Gunarti, N. S., Fikayuniar, L., & Aziz, S. *Metode Fitokimia untuk Farmasi-Jejak Pustaka*. Jejak Pustaka. Hal 1-4
- Handayani.Fitri. Anita Apriliana, Ira Novianti. 2020. Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Simplisia Buah Selutui Puka (*Tabernaemontana macracarpa Jack*). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*.hal 11
- Hasanuddin. Asni. Jurnal Syarif.2022. dentifikasi *Mycobacterium tuberculosis* Pada Perokok Aktif Dengan Metode Pewarnaan Ziehl–Neelsen. *Jurnal Kesehatan Jompa*. Vol 1, no 2.hal 45
- Husein, S. G., & Mentari, R. J. (2018). Karakterisasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan spektrofotometri fourier transform

infrared. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 6(2).

Irianti, K., Kuswandi, Y. N., & Kusumaningtiyas, R. (2016). Mengenal Anti

Japan International Cooperation Agency. (1987). Minimum Essentials Of Laboratory Procedure For Tuberculosis Control Semarang Balai Laboratorium Kesehatan Semarang. Halaman: 51-65.

Julianto. Tatang Shabur. 2019. Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta, Hal 45-48

Maisarah, M., & Chatri, M. (2023). Karakteristik dan Fungsi Senyawa Alkaloid Sebagai Antifungsi pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), 231-236.

Maryam.Fadillah. Yuri PratiwiUtami, Suwahyuni Mus, Rohana.2023. Perbandingan Beberapa Metode EkstraksiEkstrak Etanol Daun Sawo Duren (*Chrysophyllum cainito* L.) Terhadap Kadar Flavanoid TotalMenggunakan Metode SpektrofotometriUV-VIS. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*Vol. 9 No. 1. Hal 133

Mayasari, U., & Laoli, M. T. (2018). Karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia daun jeruk lemon (*citrus limon* (l.) burm. f.). *KLOROFIL: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 2(1), 7-13.

Minarno, E.B. (2015). Skrining fitokimia dan kandungan total flavonoid pada buah carica pubescens lenne & k. koch di kawasan Bromo, Cangar, dan dataran tinggi Dieng. El-Hayah: *Jurnal Biologi*, 5(2), 73-82.

Misnadiarly, A. A. (2006). Tuberculosis dan Mycobacterium Atipik. *Jakarta. Dian rakyat*.

Muslimah, D. D. L. (2019). Keadaan lingkungan fisik dan dampaknya pada keberadaan *Mycobacterium tuberculosis*: Studi di wilayah kerja Puskesmas Perak Timur Surabaya. *Jurnal kesehatan lingkungan*, 11(1), 27.

- Noer, S., Pratiwi, R. D., Gresinta, E., Biologi, P., & Teknik, F. (2018). Penetapan kadar senyawa fitokimia (tanin, saponin dan flavonoid) sebagai kuersetin pada ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19-29
- Pertiwi, R. N. (2012). Hubungan antara karakteristik individu, praktik hygiene dan sanitasi lingkungan dengan kejadian tuberculosis di Kecamatan Semarang Utara Tahun 2011. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro*, 1(2), 18811.
- Putri, P. A., Chatri, M., & Advinda, L. (2023). Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), 252-256.
- Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. W. (2017). Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1-7.
- Leba, M. A. U. (2017). *Buku Ajar: Ekstraksi dan real kromatografi*. Deepublish.
- Retno. 2017. Patofisiologi, Diagnosis dan Klasifikasi Tuberkulosis. Departemen Ilmu Kedokteran Komunitas, Okupasi dan Keluarga FKUI. Dikutip 14 Februari 2017. tersedia di www.staff.ui.ac.id/material/pato
- Riskiana, N. A., Nasution, N. F., & Dona, R. A. (2020). Belajar Biologi Siswa Pada Materi Bakteri Di Kelas X SMA Negeri 1 Batang Onang. *Jurnal Edugensis*, 2(2), 8–14. <https://journal.ipts.ac.id/index.php/BIOESA/article/view/1992>
- Santi, V. M., Mutia, A. N., & Meidianingsih, Q. (2022). Geographically Weighted Regression dalam Menganalisis Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kasus Tuberkulosis di Sumatera Utara. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 19(2), 108.

- Sari, D. P., Kusumastuti, M.Y., & Safriana, S. (2023). Uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol dan berbagai fraksi daun rimbang (*Solanum torvum* Swartz) terhadap Bakteri *staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 440-449.
- Sunarjono. Drs.H.Hendro. 2005. *Sirsak dan Srikaya*. Penerbit penebar swadaya. Jl.raya bogor.Depok.Hal 22-25
- Tuberkulosis. *Mengenal Anti-Tuberkulosis*, 1-212.
- WHO. 2015. *Global Tuberculosis Report*. Geneva: Word Health Organisation.
- Widaryanto. Eko. Nur Azizah. 2018. *Perspektif Tanaman Obat Berkhasiat (Peluang, Budidaya, Pengolahan Hasil dan Pemanfaatan)*. Penerbit UB press. Jl veteran. Malang. Hal 13
- Wullur. Adeanne C, Jonathan Schadu, Andriani N. K. Wardhani. 2012. *Identifikasi Alkaloid Pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)*, Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Manado, Hal 54.
- Depkes, RI. 2016. *Farmakope Indonesia edisi empat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata* L.).



**LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
HERBARIUM MEDANENSE**

(MEDA)

UNIVERSITAS SUMATERA UTARA

Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155

Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail. nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 21 Mei 2024

No. : 2365/MEDA/2024
Lamp. : -
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH,
Sdr/i : Muhammad Sulaiman
NIM : 2005018
Instansi : Program Studi S1 Farmasi Stikes Indah Medan

Dengan hormat,
Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Magnoliales
Famili : Annonaceae
Genus : *Annona*
Spesies : *Annona muricata* L.
Nama Lokal: Daun Sirsak

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Kepala Herbarium Medanense.

Prof. Dr. Etti Sartina Siregar S.Si., M.Si.
NIP. 197211211998022001

Lampiran 2. Gambar daun Sirsak (*Annona muricata* L.).



Daun sirsak segar



Daun sirsak kering

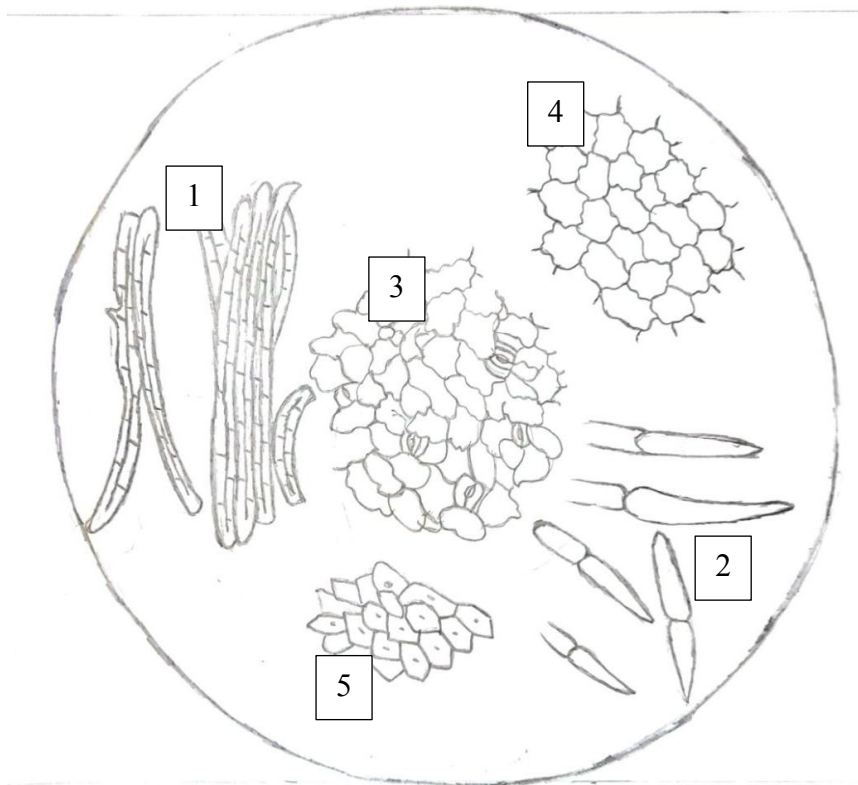


Simplisia daun sirsak



Serbuk simplisia daun sirsak

Lampiran 3. Gambar serbuk simplisia daun Sirsak (*Annona muricata* L.).



Keterangan: 1. Xilem

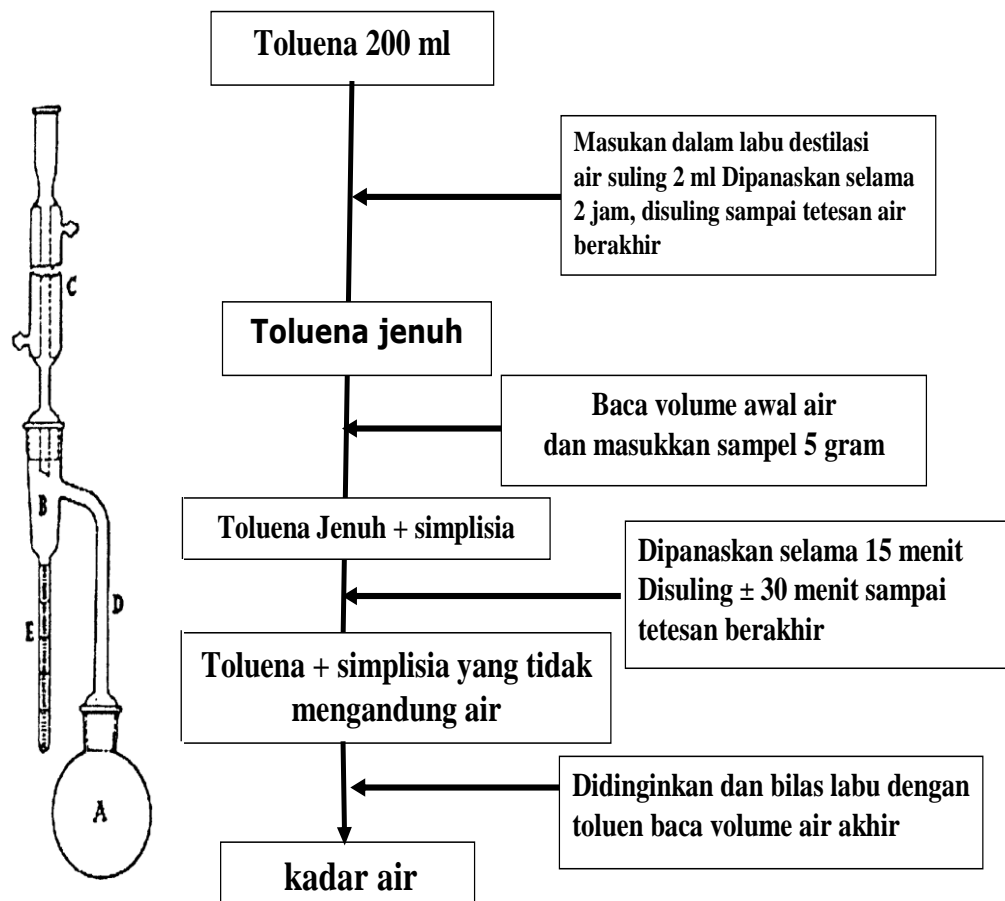
2. Sel rambut penutup

3. Stomata (tipe parasitik)

4. Epidermis

5. Sel batu

Lampiran 4. Bagan Penetapan Kadar Air



KETERANGAN :

- A. Labu alas bulat
- B. Alat penampung
- C. Pendingin Bola
- D. Tabung penghubung
- E. Tabung penerima

Lampiran 5. Hasil penetapan kadar air.

a. Sampel 1

Berat Sampel = 5 gram

Volume I = 1,70 ml

Volume II = 1,40 ml

Volume air = 1,70 ml – 1,40 ml = 0,30 ml

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{berat sampel (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,30}{5,00} \times 100 \% = 6,00 \%\end{aligned}$$

b. Sampel 2

Berat Sampel = 5 gram

Volume I = 1,70 ml

Volume II = 1,50 ml

Volume air = 1,70 ml – 1,50 ml = 0,20 ml

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{berat sampel (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,20}{5,00} \times 100 \% = 4,00 \%\end{aligned}$$

c. Sampel 3

Berat Sampel = 5 gram

Volume I = 1,70 ml

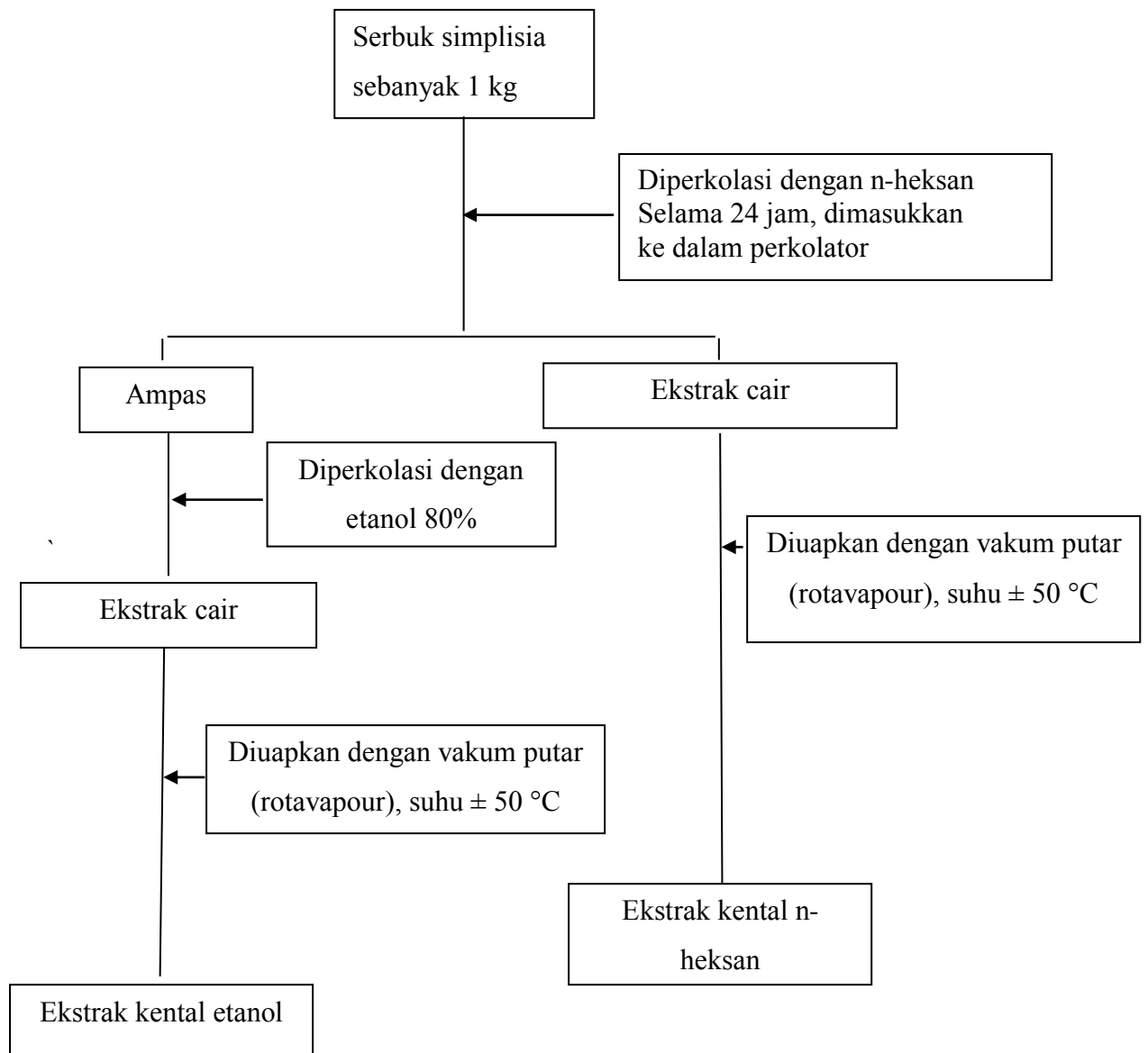
Volume II = 1,45 ml

Volume air = 1,70 ml – 1,45 ml = 0,25 ml

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{berat sampel (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,25}{5,00} \times 100 \% = 5,00 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar air rata-rata} &= \frac{\text{Sampel 1} + \text{sampel 2} + \text{sampel 3}}{3} \\ &= \frac{6,00 \% + 4,00 \% + 5,00 \%}{3} = 5 \%\end{aligned}$$

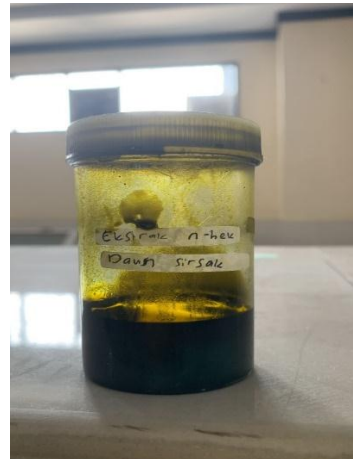
Lampiran 6. Bagan pembuatan ekstrak etanol dan n-heksan daun sirsak



Lampiran 7. Hasil Ekstrak Etanol dan n-heksan Daun Sirsak



Ekstrak Etanol



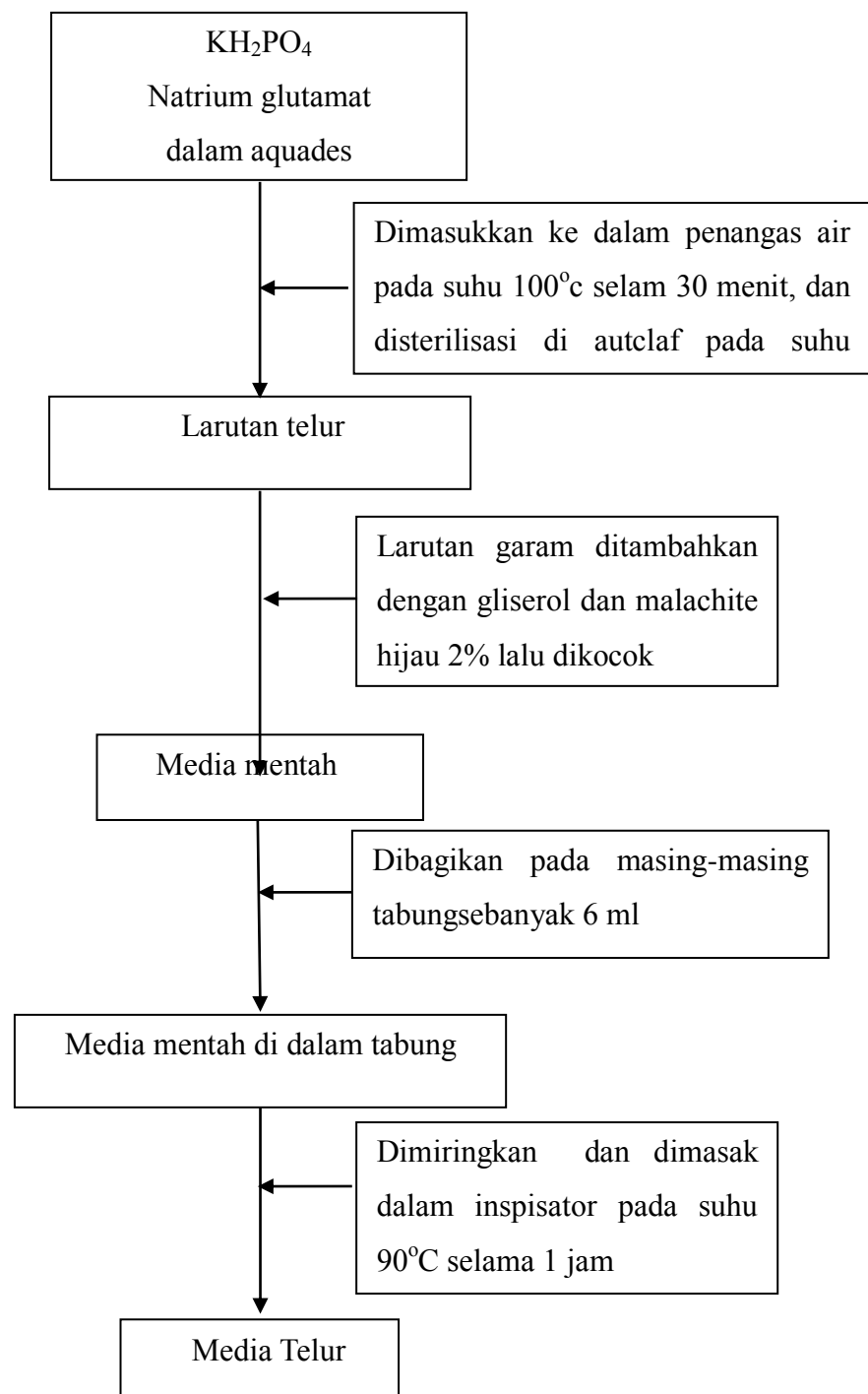
Ekstrak n-heksan

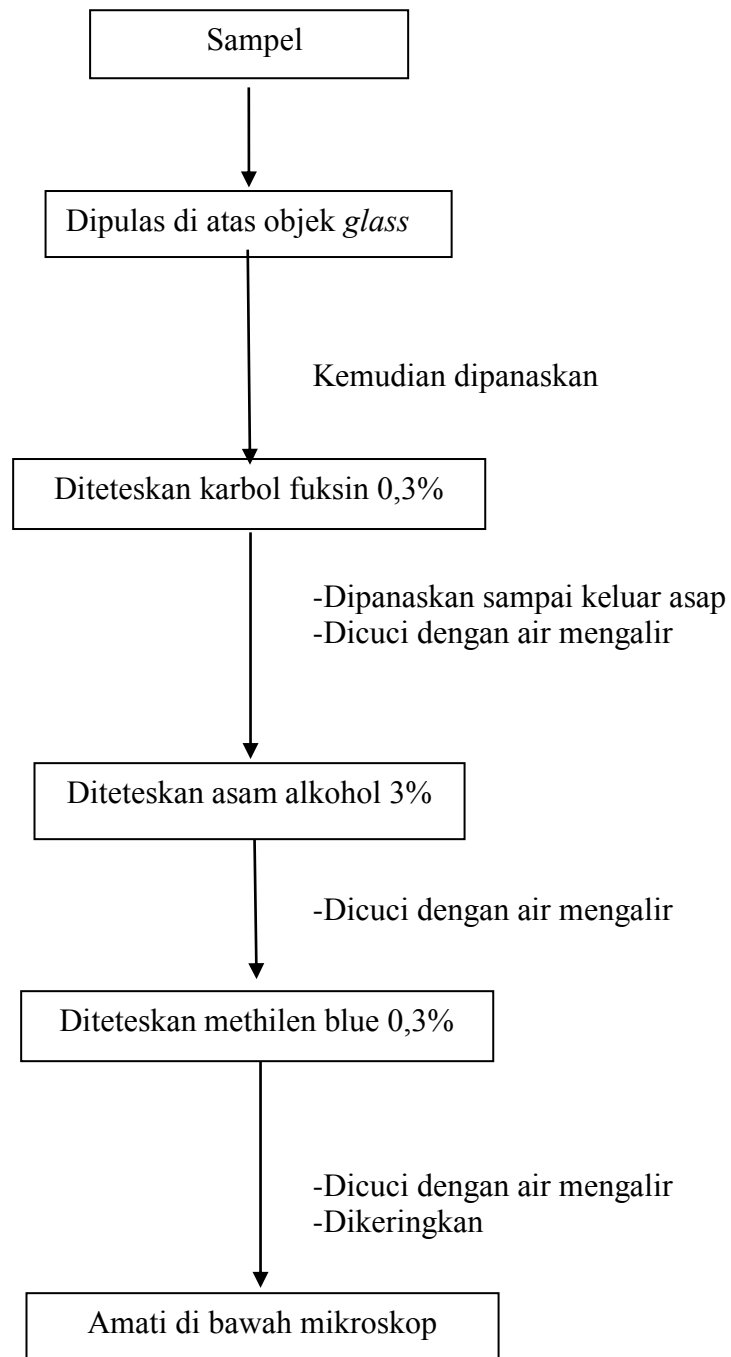
a. Rendeman ekstrak n-heksan

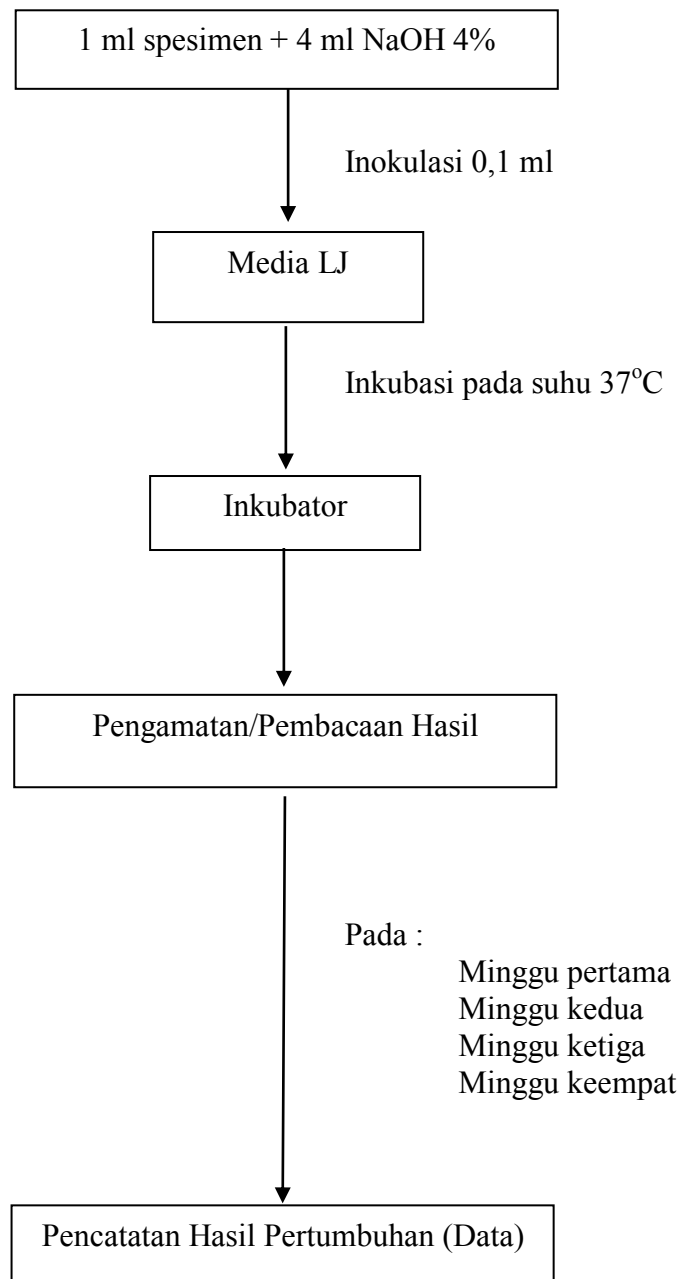
$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot akhir (gram)}}{\text{Bobot awal sampel (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{33}{1000} \times 100 \% \\ &= 3,3 \%\end{aligned}$$

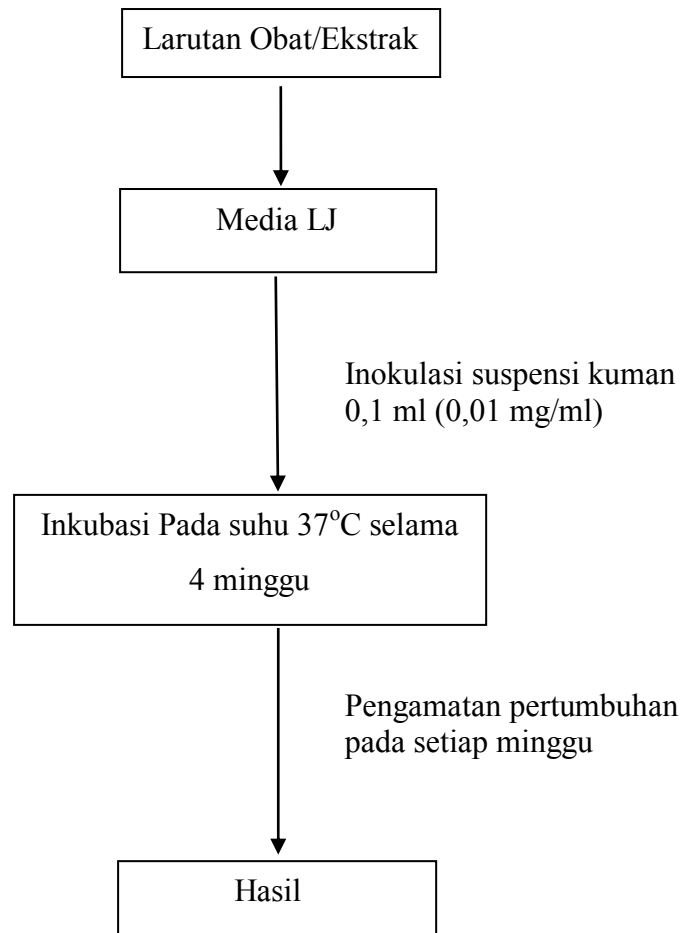
b. Rendeman ekstrak etanol

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot akhir (gram)}}{\text{Bobot awal sampel (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{157}{1000} \times 100 \% \\ &= 15,7 \%\end{aligned}$$

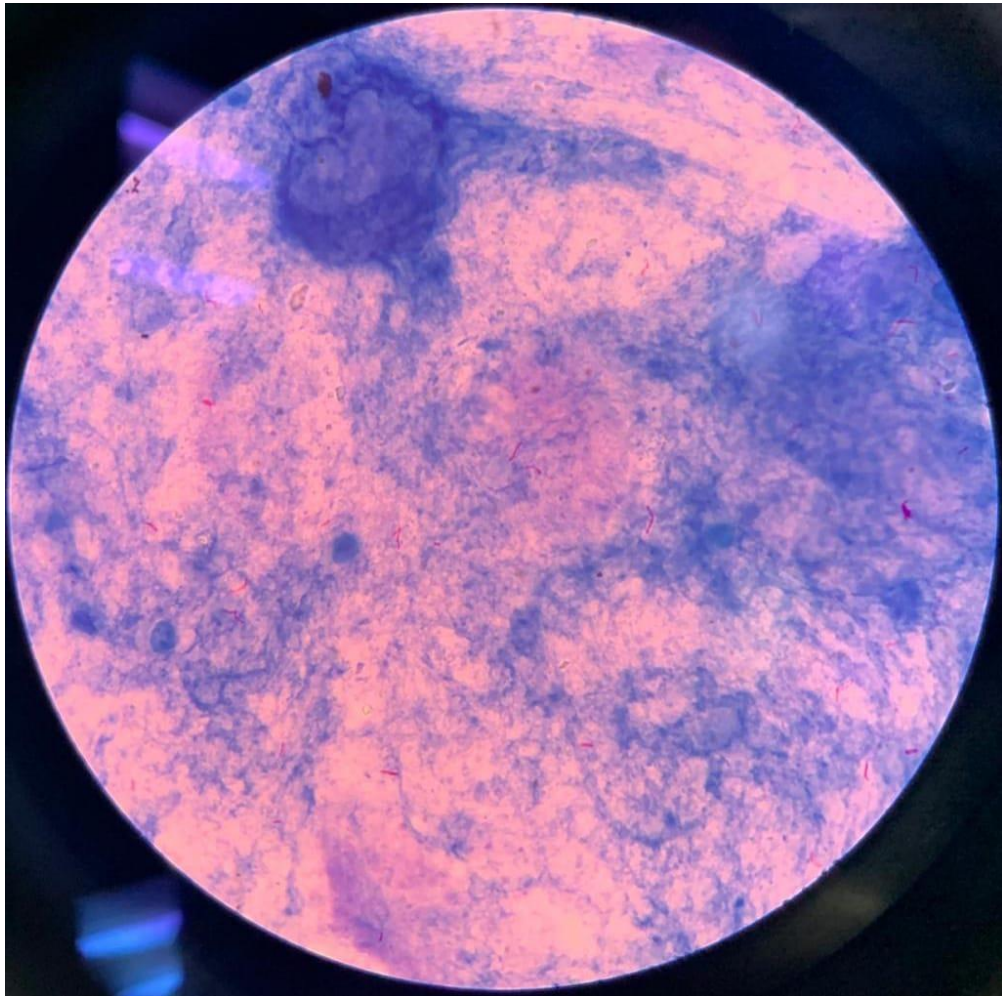
Lampiran 8. Bagan Pembuatan Pembenihan Media Telur

Lampiran 9. Bagan Pengecetan bakteri

Lampiran 10. Pemeriksaan kultur biakan

Lampiran 11. Tes kepekaan terhadap obat dan ekstrak

Lampiran 12. Hasil mikroskopik *Mycobacterium tuberculosis*



Perbesaran x100

Basil *Mycobacterium tuberculosis* diamati di bawah mikroskopik (basil merah)

Lampiran 13. Media Ogawa yang belum ditanam kuman *Mycobacterium tuberculosis*.



Lampiran 14. Media Ogawa yang sudah ditanam Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada minggu pertama



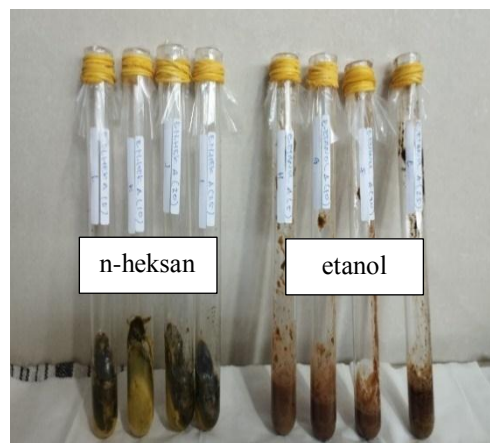
Blanko spesimen A



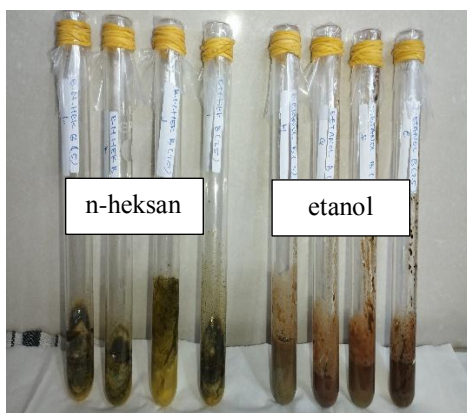
Blanko spesimen B



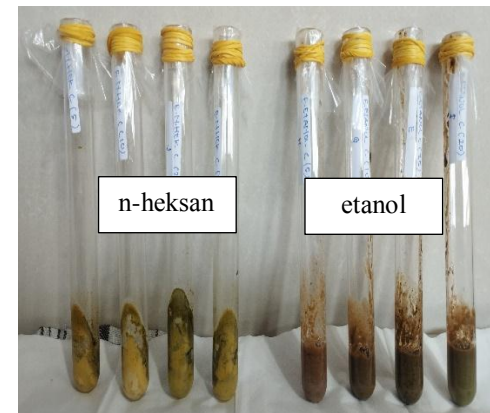
Blanko spesimen c



Ekstrak spesimen A



Ekstrak spesimen B



Ekstrak spesimen C

Lampiran 15. Media Ogawa yang sudah ditanam Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada minggu kedua



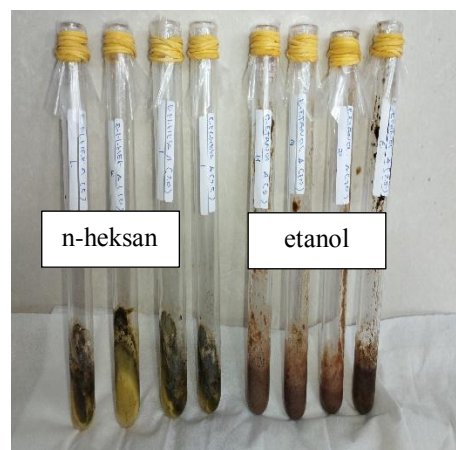
Blanko spesimen A



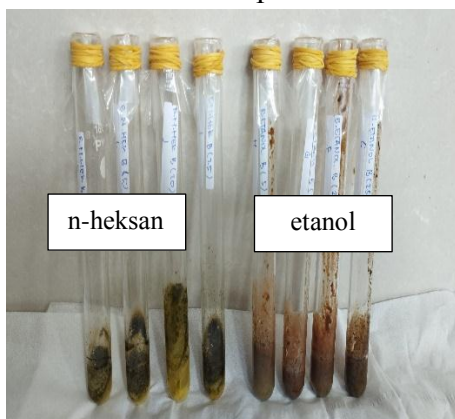
Blanko spesimen B



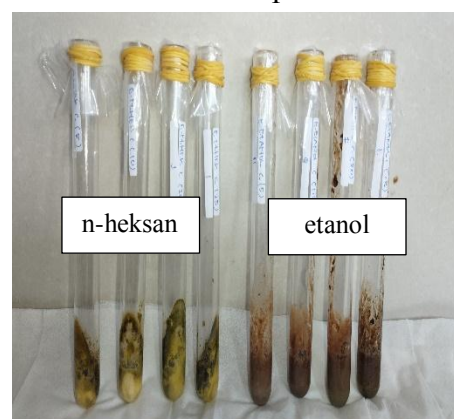
Blanko spesimen C



Esktrak spesimen A



Esktrak spesimen B



Esktrak spesimen C

Lampiran 16. Media Ogawa yang sudah ditanam Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada minggu ketiga



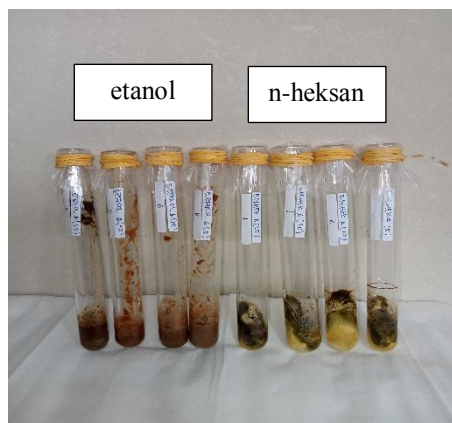
Blanko spesimen A



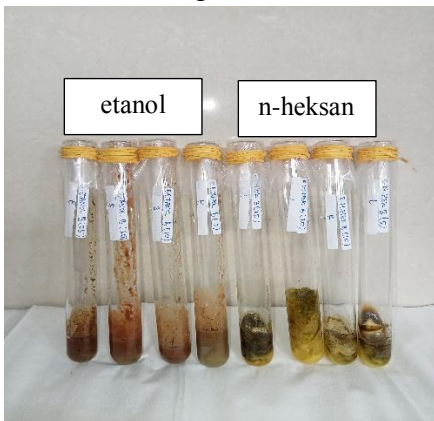
Blanko spesimen B



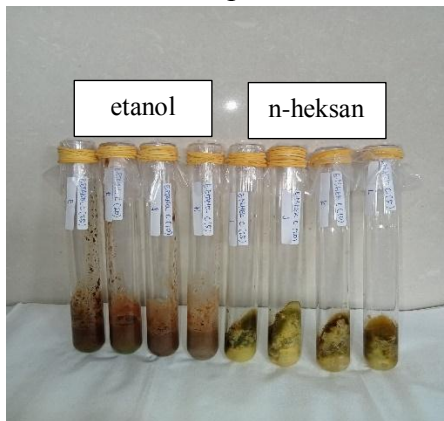
Blanko spesimen C



Esktrak spesimen A



Esktrak spesimen B



Esktrak spesimen C

Lampiran 17. Media Ogawa yang sudah ditanam Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada minggu keempat.



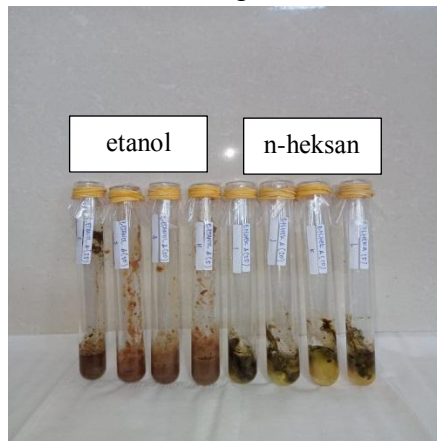
Blanko spesimen A



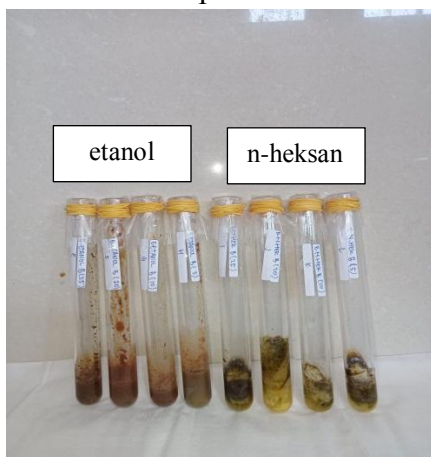
Blanko spesimen B



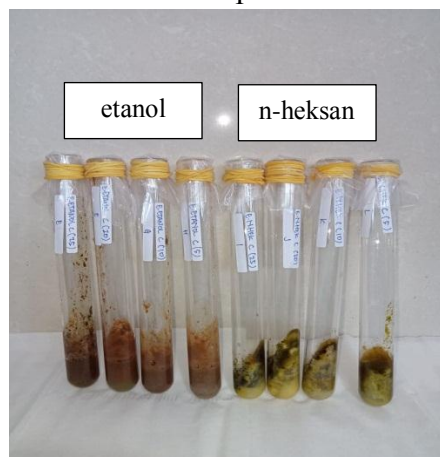
Blanko spesimen C



Ekstrak spesimen A



Ekstrak spesimen B



Ekstrak spesimen C