

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil**

##### **1. Karakteristik obyek penelitian**

###### a. Biji sirsak dan ekstrak etanol biji sirsak

Objek dalam penelitian ini adalah biji sirsak yang memiliki warna coklat kehitaman, keras, berujung tumpul, dan dengan permukaan halus mengkilap. Biji sirsak diperoleh dari buah sirsak yang di jual di Pasar Kertha Boga, Desa Pemogan. Jumlah biji sirsak yang dapat diperoleh oleh penulis setelah proses penyortiran yaitu seberat 500 gram. Sampel yang telah disortir, selanjutnya dilakukan pengeringan selama tujuh hari sehingga didapatkan sampel yang sudah kering. Kemudian sampel yang sudah kering, diblender untuk mendapatkan simplisia yang berupa bubuk halus. Simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Kemudian hasil maserasi dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental. Untuk mendapatkan ekstrak kental sebanyak 24,8 gram diperlukan serbuk biji sirsak sebanyak 250 gram. Ekstrak kental yang didapatkan berwarna coklat dan bertekstur lengket seperti madu.

###### b. Skrining fitokimia

Ekstrak kental biji sirsak kemudian dilakukan uji skrining fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan senyawa kimia pada ekstrak kental biji sirsak. Uji skrining fitokimia yang dilakukan meliputi alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, dan steroid. Adapun hasil skrining fitokimia yang dilakukan dapat di lihat pada Tabel 5. Ekstrak kental biji sirsak kemudian diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yang dibuat dengan cara melakukan

pengenceran dari ekstrak biji sirsak konsentrasi 100% dengan penambahan etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, dan 80%.

**Tabel 5**  
**Hasil Uji Skrining Fitokimia**

<b>Senyawa</b>	<b>Pereaksi</b>	<b>Keterangan</b>
Alkaloid	Dragendorf	Positif (+)
	Mayer	Positif (+)
	Wagner	Positif (+)
Saponin	Uji busa	Positif (+)
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Positif (+)
Flavonoid	HCl Pekat dan Mg	Positif (+)
Steroid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Negatif (-)

c. Peremajaan bakteri dan pengamatan bakteri

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri gram positif *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Bakteri tersebut dilakukan peremajaan menggunakan media NA (*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), dan media MHA (*Mueller Hinton Agar*). Pada peremajaan pertama menggunakan media NA, didapatkan hasil bakteri tidak dapat tumbuh. Kemudian dilakukan peremajaan ulang menggunakan media NB, bakteri dapat tumbuh yang ditandai dengan keruhnya media NB. Kemudian bakteri yang tumbuh pada NB diinokulasikan pada media NA dan MHA, lalu diinkubasi pada dua kondisi yaitu aerob dan anaerob dengan menggunakan *anaerobic jar*, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam. Setelah diinkubasi, didapatkan hasil bakteri dapat tumbuh pada kedua media baik pada kondisi aerob maupun anaerob.

Kemudian dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada koloni bakteri *Propionibacterium acnes*. Hasil pengamatan makroskopis didapatkan koloni berbentuk bulat, berwarna putih, permukaan halus, konsistensi padat, dan

opaque. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pengecatan gram kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Pada pengamatan mikroskopis didapatkan hasil bentuk bakteri batang dengan ujung kokoid, dengan susunan sel yang tidak beraturan, berwarna ungu.

## 2. Hasil uji aktivitas antibakteri

Hal yang diamati dalam penelitian ini adalah zona hambat yang terbentuk pada pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* akibat pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak biji sirsak. Adapun hasil uji aktivitas antibakteri dapat di lihat pada tabel 6.

**Tabel 6**  
**Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**

Pengulangan	Diameter zona hambat kontrol (mm)			Diameter zona hambat tiap konsentrasi ekstrak (mm)						
	Etanol 96%	NaCl 0,9%	Kontrol positif	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%
I	0	0	20,38	6,18	7,44	7,66	8,24	8,54	8,64	9,02
II	0	0	20,38	6,02	7,44	7,48	8,04	8,34	8,74	8,60
III	0	0	20,52	6,30	7,04	7,50	7,70	8,04	8,56	9,02
<b>Rerata</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>20,44</b>	<b>6,16</b>	<b>7,30</b>	<b>7,55</b>	<b>7,99</b>	<b>8,31</b>	<b>8,65</b>	<b>8,88</b>

Pada penelitian ini digunakan Kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif. Berdasarkan Tabel 6, diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh Kloramfenikol 30 µg terhadap *Propionibacterium acnes* memiliki rata-rata sebesar 20,44 mm dengan diameter terbesar 20,58 mm dan diameter terkecil 20,38 mm.

Dalam penelitian ini NaCl 0,9% digunakan sebagai kontrol negatif. Dari hasil penelitian, diameter zona hambat yang ditimbulkan NaCl 0,9% adalah 0 mm pada semua pengulangan. Hasil ini menunjukkan bahwa NaCl 0,9% tidak menghasilkan zona hambat.

Dalam penelitian ini etanol 96% digunakan sebagai kontrol reagen. Dari hasil penelitian, diameter zona hambat yang ditimbulkan etanol 96% adalah 0 mm pada semua pengulangan. Hasil ini menunjukkan bahwa etanol 96% tidak menghasilkan zona hambat

Pada penelitian ini ekstrak biji yang di uji pada konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80%. Variasi konsentrasi ini dipilih untuk mendapatkan konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Banyaknya pengulangan yang dilakukan pada kelompok ini sebanyak tiga kali. Dari hasil pengujian, terdapat zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Berdasarkan data pada Tabel 6, dapat dilihat rerata diameter zona hambat tertinggi dalam penelitian ini diperoleh pada ekstrak biji sirsak dengan konsentrasi 80% yaitu sebesar 8,88 mm, sedangkan rerata diameter zona hambat terendah diperoleh pada ekstrak biji sirsak dengan konsentrasi 20% sebesar 6,16 mm. Hasil zona hambat pada semua variasi konsentrasi, jika dikategorikan menurut Davis dan Stout (1971) dalam Ifora dkk, (2022) termasuk ke dalam kategori sedang.

### **3. Analisis perbedaan diameter zona hambat**

Hasil pengukuran diameter zona hambat yang diperoleh dari penelitian ini kemudian dianalisa menggunakan uji statistik dengan bantuan *software* komputer. Adapun hasil dari uji statistik yaitu:

#### **a. Uji normalitas**

Langkah pertama yang dilakukan adalah menguji normalitas data dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Hasil uji yang diperoleh dapat dilihat pada lampiran 1 di mana nilai  $p = 0,000$ . Jika nilai ini dibandingkan dengan nilai

signifikansi  $\alpha$  (0,05) maka nilai  $p$  yang diperoleh lebih kecil dari 0,05,  $p < \alpha$  (0,000 < 0,05) yang artinya data tidak berdistribusi normal.

b. Uji perbedaan diameter zona hambat pada variasi konsentrasi ekstrak

Karena data tidak berdistribusi normal, dilakukan uji Non parametrik *Kruskal-Wallis* untuk menganalisis perbedaan zona hambat pada variasi konsentrasi ekstrak biji sirsak. Pada uji beda menggunakan *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai  $p < \alpha$  (0,001 < 0,05) yang artinya bahwa ada perbedaan nilai diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol biji sirsak.

c. Uji perbedaan diameter zona hambat antara kontrol dengan variasi konsentrasi ekstrak

Selanjutnya dilakukan uji perbedaan diameter zona hambat antara kontrol dengan masing-masing variasi konsentrasi ekstrak etanol biji sirsak menggunakan uji *Mann Whitney*. Hasil uji didapatkan nilai  $p = 0,037$  ( $p < \alpha$  (0,05)) pada pengujian kontrol negatif dengan masing-masing variasi konsentrasi, yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara diameter zona hambat kontrol negatif dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, dan 80%. Pada kontrol reagen dengan variasi konsentrasi didapatkan nilai  $p = 0,037$  ( $p < \alpha$  (0,05)) yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara diameter zona hambat kontrol reagen dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, dan 80%. Dan pada kontrol positif dengan konsentrasi 20, 40, 50, 60, dan 70% didapatkan nilai  $p = 0,046$  ( $p < \alpha$  (0,05)) serta nilai  $p = 0,043$  ( $p < \alpha$  (0,05)) pada kontrol positif terhadap konsentrasi 30 dan 80% yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara diameter zona hambat kontrol positif dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, dan 80%.

d. Uji perbedaan diameter zona hambat antar variasi konsentrasi

Selanjutnya dilakukan uji perbedaan diameter zona hambat antar masing-masing variasi konsentrasi ekstrak etanol biji sirsak menggunakan uji *Mann Whitney*. Hasil uji dapat di lihat pada lampiran 1, didapatkan nilai signifikansi  $p < \alpha$  (0,05), yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara diameter zona hambat pada masing-masing variasi konsentrasi. Adapun nilai  $p < \alpha$  (0,05) diperoleh pada konsentrasi 20% terhadap konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%; konsentrasi 30% terhadap konsentrasi 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%; konsentrasi 40% terhadap konsentrasi 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, dan 80%; konsentrasi 50% terhadap konsentrasi 20%, 30%, 40%, 70%, dan 80%; konsentrasi 60% terhadap konsentrasi 20%, 30%, 40%, 70% dan 80%, konsentrasi 70% terhadap konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%, dan 60%; konsentrasi 80% terhadap konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%, dan 60%. Sedangkan konsentrasi 50% dengan konsentrasi 60% dan konsentrasi 70% dengan 80% didapatkan nilai  $p > \alpha$  (0,05) yang artinya tidak ada perbedaan yang bermakna antara diameter zona hambat pada masing-masing variasi konsentrasi.

## **B. Pembahasan**

### **1. Karakteristik obyek penelitian**

#### a. Pembuatan ekstrak etanol biji sirsak

Biji sirsak yang telah di sortir dan di cuci bersih, kemudian di keringkan dengan diangin-anginkan dan terhindar dari sinar matahari langsung. Pengeringan dengan cara ini bertujuan untuk menghindari kerusakan pada zat aktif yang terkandung dalam simplisia karena sinar ultraviolet dan suhu tinggi (Winangsih dkk., 2013) Setelah kering, kemudian biji sirsak diblender hingga menjadi serbuk.

Tujuannya untuk memperluas permukaan agar senyawa dapat terekstraksi dengan sempurna sehingga interaksi pelarut dan senyawa yang diambil dapat lebih efektif. Semakin kecil ukuran simplisia maka semakin luas bidang kontak antara simplisia dengan pelarut. Hal ini menyebabkan kecepatan untuk mencapai kesetimbangan sistem menjadi lebih besar (Ningsih dkk., 2016)

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

Proses maserasi dalam penelitian ini diikuti dengan pengadukan secara berkala. Pengadukan berkala bertujuan untuk mencegah memadatnya serbuk sehingga pelarut sulit menembus bahan dan kesulitan menyari zat aktif (Ningsih dkk., 2016). Pelarut yang digunakan pada proses maserasi adalah etanol 96%. Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena sifatnya selektif, tidak beracun, absorpsi baik, dan mampu mengekstrak yang tinggi sehingga mampu mengekstrak senyawa yang bersifat polar, non polar, dan semi polar. Etanol 96% lebih mudah berpenetrasi ke dalam dinding sel dibandingkan etanol dengan konsentrasi rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt dkk., 2021).

#### b. Uji skrining fitokimia

Dari proses ekstraksi didapatkan ekstrak etanol biji sirsak dengan konsentrasi 100%. Untuk mengetahui potensi ekstrak etanol biji sirsak sebagai antibakteri, ekstrak etanol biji sirsak dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi yaitu 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%. Sebelum dilakukan uji kepada bakteri, ekstrak biji sirsak dilakukan uji skrining fitokimia secara kualitatif. Tujuannya untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak biji sirsak. Pada penelitian ini didapatkan hasil positif pada alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin, serta hasil negatif pada steroid. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Iyekowa, et al (2020) dengan judul *Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Ethanol Extracts of Leaf and Seed of Annona muricata (Soursop) Linn.* Pada penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol biji sirsak positif mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin, serta hasil negatif pada steroid.

#### c. Peremajaan bakteri

Sebelum dilakukan uji, bakteri dilakukan peremajaan untuk meregenerasi sel bakteri, menjaga ketersediaan nutrisi, dan menghindari terjadinya perubahan karakteristik dari kultur murni yang ditanam. Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan media NA (*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), dan MHA (*Mueller Hinton Agar*). Pada peremajaan pertama menggunakan media NA, bakteri tidak dapat tumbuh. Hal ini dikarenakan bakteri mengalami stress yang mengakibatkan bakteri berada dalam fase lag yang berkepanjangan.

Fase lag merupakan fase adaptasi yang mana bakteri menyesuaikan dirinya pada kondisi yang baru. Lamanya fase ini dapat bervariasi berdasarkan perbedaan

kondisi asal bakteri serta kondisi dari bakteri itu sendiri. Sel bakteri yang tumbuh aktif dibiakkan ke dalam media yang sesuai dengan kondisi lingkungan yang sesuai akan memiliki fase lag yang singkat. Ketika sel bakteri mengalami kerusakan akan memiliki fase lag yang panjang karena bakteri harus memperbaiki selnya sebelum melakukan pembelahan. Biasanya selama fase lag, bakteri menyintesis RNA, enzim, dan metabolit esensial yang mungkin hilang dari lingkungan barunya, serta menyesuaikan diri dengan perubahan lingkungan seperti suhu, pH, atau keberadaan oksigen (Bruslind, 2021).

Kemudian dilakukan peremajaan ulang menggunakan media NB, bakteri dapat tumbuh yang ditandai dengan keruhnya media NB. Kemudian bakteri yang tumbuh pada NB diinokulasikan pada media NA dan MHA, lalu diinkubasi pada dua kondisi yaitu aerob dan anaerob dengan menggunakan *anaerobic jar*, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam. Setelah diinkubasi, didapatkan hasil bakteri dapat tumbuh pada kedua media baik pada kondisi aerob maupun anaerob. Kemudian dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada koloni bakteri *Propionibacterium acnes*. Kemudian dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada koloni bakteri *Propionibacterium acnes*. Hasil pengamatan makroskopis didapatkan koloni berbentuk bulat, berwarna putih, permukaan halus, konsistensi padat, dan opaque. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pengecatan gram kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Pada pengamatan mikroskopis didapatkan hasil bentuk bakteri batang dengan ujung kokoid, dengan susunan sel yang tidak beraturan, berwarna ungu.

## 2. Hasil uji aktivitas antibakteri

a. Diameter zona hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes* pada kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik Kloramfenikol 30µg. Penggunaan antibiotik Kloramfenikol karena antibiotik ini bersifat spektrum luas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri aerob maupun anaerob. Kloramfenikol juga merupakan agen antimikroba yang aktif melawan bakteri gram positif dan gram negatif. Mekanisme kerja kloramfenikol yaitu dengan cara masuk ke sel target melalui difusi terfasilitasi dan mengikat subunit 50S ribosom (Abdollahi & Mostafalou, 2014). Kloramfenikol juga bekerja dengan cara menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang karena enzim peptidil transferase terhambat (Yulneriwarni dkk., 2016).

Tujuan dari penggunaan kontrol positif adalah sebagai kontrol dalam proses kerja saat melakukan penelitian. Kontrol ini berupa media yang digunakan dalam kondisi baik, isolat bakteri layak digunakan, dan ketepatan konsentrasi suspensi bakteri. Hal tersebut dapat diamati dengan melihat kemampuan antibiotik kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji yang ditandai dengan adanya zona hambat. Menurut CLSI, (2012) diameter zona hambat yang dihasilkan oleh kloramfenikol dapat dikategorikan menjadi tiga yaitu sensitif (>18 mm), intermediet (13-17 mm), dan resisten (< 12 mm). Berdasarkan hasil pengukuran, didapatkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 20,44 mm. Hasil tersebut bila dibandingkan dengan standar CLSI, maka zona hambat yang dihasilkan kontrol positif termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

Penggunaan kloramfenikol 30µg sebagai kontrol positif terhadap daya hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes* juga digunakan pada penelitian yang dilakukan oleh Dewi dkk. (2020) dengan judul *Uji Daya Hambat Berbagai Konsentrasi Perasan Jeruk Lemon Terhadap Bakteri Propionibacterium acnes* dari penelitian tersebut didapatkan bahwa antibiotik kloramfenikol 30µg yang digunakan sebagai kontrol positif dikategorikan sensitif terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes*.

b. Diameter zona hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes* pada kontrol reagen

Etanol 96% pada penelitian ini digunakan sebagai kontrol reagen. Tujuannya untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan untuk uji memiliki pengaruh terhadap diameter zona hambat yang dihasilkan pada masing-masing konsentrasi ekstrak biji sirsak. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada kontrol reagen adalah 0 mm. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan tidak mempengaruhi zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi tersebut karena etanol 96% tidak memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri uji. Dapat dikatakan bahwa zona hambat yang timbul pada masing-masing konsentrasi murni berasal dari zat aktif yang terkandung dalam ekstrak biji sirsak.

Pada penelitian yang dilakukan oleh (Prayoga dkk., 2022) berjudul *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (Premna oblongifolia Merr) Terhadap Bakteri Propionibacterium acnes Penyebab Jerawat* di mana dalam penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa pada etanol 96% tidak menunjukkan daya hambat.

c. Diameter zona hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes* pada kontrol negatif

NaCl 0,9% pada penelitian ini digunakan sebagai kontrol negatif. Pengujian dengan menggunakan NaCl 0,9% bertujuan untuk memastikan apakah dalam pengerjaan uji tidak terdapat kontaminasi dan untuk mengetahui apakah NaCl 0,9% yang digunakan untuk membuat suspensi bakteri berpengaruh terhadap pembentukan zona hambat. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada kontrol negatif adalah 0 mm. Hal ini menunjukkan bahwa NaCl 0,9% yang digunakan untuk membuat suspensi bakteri tidak mempengaruhi dalam pembentukan zona hambat, serta tidak terdapat kontaminasi saat pengerjaan uji.

d. Diameter zona hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes* pada ekstrak biji sirsak dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, dan 80%

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji sirsak dalam penelitian ini menggunakan metode difusi cakram untuk melihat ada tidaknya zona hambat. Ekstrak biji sirsak di uji dalam tujuh konsentrasi dan setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan. Ketujuh konsentrasi yaitu 20, 30, 40, 50, 60, 70, dan 80% diperoleh dengan cara mengencerkan ekstrak pekat menggunakan etanol 96%. Pada penelitian ini diperoleh bahwa seluruh konsentrasi ekstrak biji sirsak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* yang ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Iyekowa et al, (2020) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol biji sirsak memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, zona hambat antibakteri dikategorikan dengan zona hambat yang telah ditetapkan. Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Ifora dkk, (2022), daya hambat suatu senyawa antibakteri dikategorikan ke dalam empat kategori yaitu lemah jika diameter zona hambat < 5 mm, sedang jika diameter zona hambat 5-10 mm, kuat jika diameter zona hambat 10-20 mm, dan sangat kuat jika diameter zona hambat > 20 mm. Dari penggolongan tersebut, maka kategori zona hambat pada konsentrasi ekstrak biji sirsak 20% (6,16 mm), 30% (7,30 mm), 40% (7,55 mm), 50% (7,99 mm), 60% (8,31 mm), 70% (8,65 mm), 80% (8,88 mm) tergolong ke dalam kategori sedang.

Hasil ini jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Zai dkk, (2019) tentang *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata Linn.) Terhadap Bakteri Propionibacterium acnes* rerata zona hambat pada konsentrasi 80% sebesar 16,30 mm yang tergolong ke dalam kategori kuat. Zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol biji sirsak pada konsentrasi 80% relatif lebih kecil dibandingkan ekstrak etanol daun sirsak. Hal ini disebabkan karena peneliti tidak mengukur kadar air pada simplisia. Kadar air yang tinggi menyebabkan tumbuhnya mikroba yang akan menurunkan stabilitas ekstrak (Utami dkk., 2017)

Zona hambat yang terbentuk dikarenakan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak biji sirsak yang berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini, zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol biji sirsak terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* disebabkan karena adanya senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak. Hal ini didukung dari hasil pengujian skrining fitokimia yang telah dilakukan peneliti yang menunjukkan bahwa kandungan zat aktif yang

terdapat pada ekstrak etanol biji sirsak meliputi alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki kemampuan antibakteri dengan mekanismenya masing-masing.

Alkaloid bertindak sebagai zat antibakteri yaitu dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel rusak dan menyebabkan kerusakan sel. Alkaloid juga bertindak sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase pada sel bakteri. Saponin bertindak sebagai zat antibakteri yaitu dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif pada permukaannya seperti detergen, sehingga saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel, akan mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu berikatan dengan membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal tersebut menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang akan mengakibatkan kerusakan sel (Ningsih & Kartika, 2016).

Tanin bertindak sebagai zat antibakteri dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga bakteri tidak terbentuk. Tanin juga mampu untuk menonaktifkan adhesin sel bakteri, menonaktifkan enzim, dan mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga menargetkan polipeptida dinding sel, sehingga pembentukan dinding sel menjadi terganggu. Hal ini mengakibatkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik (Rijayanti, 2014).

Flavonoid bertindak sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Dalam menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B memiliki peran penting dalam proses interkalisasi dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Flavonoid menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Dalam menghambat fungsi membran sel, flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran sel bakteri dan disertai dengan keluarnya senyawa intraseluler. Selain itu, flavonoid dapat menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan fosfolipase. Dalam Metabolisme energi, flavonoid menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga metabolisme terhambat (Rijayanti, 2014).

Pada pengujian uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram, adapun berbagai faktor yang mempengaruhi dalam pengujian yaitu pH media, komponen media, stabilitas antibiotik, besar inokulum, serta lama inkubasi. Selain itu, lama perendaman cakram juga mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Pahlevi (2018) tentang *Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Kulit Buah Naga (Hylocereus costaricensis) Terhadap Bakteri Aeromonas Hydrophila*, lama perendaman kertas cakram terhadap ekstrak memberikan pengaruh terhadap resapan zat aktif pada ekstrak ke dalam cakram. Semakin lama perendaman cakram maka semakin banyak zat aktif yang masuk ke dalam cakram sehingga mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa ekstrak biji sirsak dapat menghambat *Propionibacterium acnes* dan ekstrak biji sirsak memiliki perbedaan zona hambat pada berbagai konsentrasi, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri. Namun, terdapat kelemahan pada penelitian ini yaitu tidak melakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol biji sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan pengenceran. Serta tidak dilakukan pengukuran kadar air pada simplisia sehingga diameter zona hambat yang terbentuk masih tergolong sedang.