

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI SEMIPOLAR EKSTRAK
ETANOL DAGING BUAH SIRSAK (*Annona muricata* L)
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*,
Staphylococcus aureus beserta BIOAUTOGRAFINYA**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**FISIA FIKA LESTIANI
K 100 090 033**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI SEMIPOLAR EKSTRAK
ETANOL DAGING BUAH SIRSAK (*Annona muricata* L.)
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* DAN
Staphylococcus aureus SERTA BIOAUTOGRAFINYA

Oleh:

FISIA FIKA LESTIANI

K 100 090 033

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : Jumat

Tanggal : 28 Juni 2013

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,

Arifah Sri Wahyuni, M.Sc., Apt

Penguji I

Dr. Muhtadi, M.Si

Pembimbing Utama

Dr. Haryoto, M.Sc

Penguji II

Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Pembimbing Pendamping

Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Mahasiswa

Fisia Fika Lestiani

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI SEMIPOLAR EKSTRAK ETANOL
DAGING BUAH SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP *Pseudomonas
aeruginosa*, *Shigella sonnei* AND *Staphylococcus aureus* SERTA
BIOAUTOGRAFINYA**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY SEMIPOLAR FRACTION OF ETHANOLIC
EXTRACTS OF PULP OF SOURSOP (*Annona muricata* L.) AGAINST
Pseudomonas aeruginosa, *Shigella sonnei* and *Staphylococcus aureus* AND
BIOAUTOGRAPHY**

**Haryoto, Fisia Fika Lestiani, dan Rima Munawarah
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Ahmad Yani, Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura 57162**

ABSTRAK

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L.). Tanaman ini mengandung alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* dan *Staphylococcus aureus* serta senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut.

Daging buah sirsak kering dimaserasi dengan etanol 96% sehingga didapat ekstrak kental etanol. Ekstrak etanol difraksinasi menggunakan kromatografi kolom vakum menggunakan fase gerak heksan:etil asetat (6:4, 5:5, 4,5:5,5, 4:6, 3:7) v/v dan didapatkan fraksi non polar, fraksi semipolar dan fraksi polar. Fraksi semipolar diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi padat dengan parameter (KHM). Kandungan senyawa diuji dengan KLT menggunakan fase gerak kloroform : metanol (7:3) v/v dan fase diam silika gel GF₂₅₄. Penentuan senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri diuji dengan bioautografi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* dan *Staphylococcus aureus* dengan KHM berturut-turut 1,5%, 0,5% dan 0,75%. Hasil uji bioautografi menunjukkan bahwa senyawa yang dapat menghambat bakteri adalah terpenoid, alkaloid dan flavonoid.

Kata kunci : *Annona muricata*, semipolar, *P. aeruginosa*, *S. sonnei*, *S. aureus*, antibakteri

ABSTRACT

*One of the plants that can be used as a traditional medicine is plant soursop (*Annona muricata* L.). This plant contains alkaloids, flavonoids and terpenoids. This study aims to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) semipolar fraction of ethanol extract of soursop fruit flesh against *Pseudomonas**

aeruginosa, Shigella sonnei and Staphylococcus aureus as well as the compound responsible for the activity.

Dried meat soursop fruit macerated with ethanol 96% ethanol in order to get a thick extract. Ethanol extract was fractionated using vacuum column chromatography using mobile phase hexane: ethyl acetate (6:4, 5:5, 4,5:5,5, 4:6, 3:7) v/v and non-polar fractions obtained, fraction semipolar and polar fractions. Semipolar fractions tested antibacterial activity using solid dilution method with parameter (KHM). The content of compounds tested by TLC using a mobile phase of chloroform: methanol (7:3) v/v and the stationary phase silica gel GF254. Determination of the chemical compounds responsible for the antibacterial tested with bioautografi.

The results showed that the ethanol extract of semipolar fraction meat soursop fruit has antibacterial activity against Pseudomonas aeruginosa, Shigella sonnei and Staphylococcus aureus with MIC respectively 1.5%, 0.5% and 0.75%. Bioautografi test results showed that compounds that inhibit bacteria are terpenoids, alkaloids and flavonoids.

Keyword: *Annona muricata, semipolar, P. aeruginosa, S. sonnei, S. aureus, antibacterial*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara berkembang dimana kejadian penyakit yang disebabkan oleh infeksi masih banyak ditemukan. Bakteri yang sering menginfeksi adalah *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Shigella sonnei*.

Pseudomonas aeruginosa terdapat pada flora normal usus, yang bersifat patogen oportunistik (Chotirmall *et al.*, 2012) yang dapat menyebabkan infeksi luka dan infeksi saluran kemih (Jawetz *et al.*, 2001). *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang banyak ditemukan pada kulit dan mulut serta saluran pernafasan bagian atas yang dapat menyebabkan infeksi pada luka dan pneumoni (Entjang, 2003). *Shigella sonnei* merupakan bakteri gram negatif yang menyebabkan disentri (Deldar & Yakhchali, 2011).

Banyak penelitian yang dilakukan dengan menggunakan tanaman untuk mencari senyawa aktif yang bisa menghambat atau membunuh bakteri. Indonesia kaya akan tanaman yang mengandung khasiat sebagai antibakteri. Salah satunya adalah spesies dari keluarga Annonaceae yaitu tanaman *Annona muricata* Linn (Vieira *et al.*, 2010). *Annona muricata* merupakan buah asli dari Amerika Tengah

(Vijayameena *et al.*, 2013). Ekstrak sirsak merupakan bakterisida (Vieira *et al.*, 2010). Ekstrak metanol dan air dari daun *Annona muricata* diuji sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Rajeswari *et al.*, 2011). Ekstrak etanol daun sirsak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* (Vijayameena *et al.*, 2013). Ekstrak aseton daun sirsak asal Cuba aktif terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus albus*, dan *Staphylococcus aureus* (Taylor L., 2002).

Ekstrak etanol daun sirsak mengandung alkaloid, flavonoid, karbohidrat, glikosida, protein, saponin dan tanin (Vijayameena *et al.*, 2013). Menurut Saputro (2011) fraksi semipolar ekstrak etanol daun sirsak mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, antranol, dan tanin. Setiap bagian dari tanaman sirsak digunakan sebagai obat karena mengandung senyawa bioaktif (utamanya acetogenin, alkaloid dan flavonoid) yang ditemukan pada akar, daun, kulit kayu, buah dan biji.

Senyawa kimia yang terdapat dalam *Annona muricata* antara lain adalah alkaloid yang terdiri dari *reticulin*, *coreximine*, *coclaurine*, *anomurine* (Sousa *et al.*, 2010) dan *murisine* (Hariana, 2006). Pada daun, akar, dan kulit batang sirsak terdapat alkaloid *isoquinoline* yaitu retikulin (alkaloid utama), *coclaurine*, *coreximine* (Sousa *et al.*, 2010), *atherosperminine*, *stepharine*, *anomurine* dan *anomuricine* (Leboeuf *et al.*, 1981). Alkaloid *annonaine*, *nornuciferine*, dan *asimilobine* dapat diisolasi dari buah sirsak (Baskar *et al.*, 2007). Selain alkaloid terdapat juga minyak esensial (β -*caryophyllen*, δ -*cadinene*, *epi- α -cadinol* dan α -*cadinol*) (Sousa *et al.*, 2010). Terdapat juga mono-seskuiterpen α - and β -*pinene*, *myrcene*, *p-cymene*, *limonene* (Ekundayo O, 1989). Menurut Nawwar *et al.* (2012) pada daun sirsak terdapat senyawa flavonol triglikosida yaitu quersetin 3-O- α -ramnosil dan β - *sophoroside*.

Sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa dalam fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak yang digunakan sebagai antibakteri.

METODOLOGI PENELITIAN

A. Variabel Penelitian

Variabel bebas : Konsentrasi fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak.

Variabel tergantung : Kadar Hambat Minimal (KHM) fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* dan *Staphylococcus aureus*.

Variabel terkontrol : Suhu inkubasi, waktu inkubasi, daerah pengambilan buah sirsak dan kondisi steril.

B. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

Vacuum rotary evaporator (Heidolph), neraca analitik, alat-alat gelas (Pyrex), *waterbath* (Mettler), mikroskop (Olympus), autoklaf (My Life) dan oven (Mettler), incubator (Mettler), LAF (Astari Niagara).

2. Bahan yang digunakan

Daging buah sirsak, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, dan *Staphylococcus aureus*, etanol 96%, heksan, dan etil asetat, cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, cat Gram D dan formalin 1%, suspending agent (CMC-Na 0,25%), media *Kligler Iron Agar* (KIA) (Merck), media *Lysine Iron Agar* (LIA) (Oxoid), media *Motility Indole Ornithine* (MIO) (Difco), media *Manitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid), akuades, media *Mueller Hinton* (MH) (Oxoid), media *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid), standar Mc. Farland III $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Remel), NaCl 0,9% (Sigma), fase diam silika gel GF₂₅₄, fase gerak hasil optimasi, dan pereaksi semprot antara lain sitroborat dan Lieberman Burchard (LB).

C. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Buku acuan yang digunakan pada determinasi tersebut adalah *Flora of Java* karangan Backer dan Van den Brink (1965).

2. Pembuatan fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak

Daging buah sirsak yang sudah kering dimaserasi sebanyak 2 kg menggunakan pelarut etanol 96% 7,5 x berat simplisia dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya, disimpan selama 2x24 jam sambil sesekali diaduk kemudian dilakukan remaserasi. Hasil maserasi di saring kemudian di pekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanol kental. Fraksinasi ekstrak etanol daging buah sirsak menggunakan kromatografi kolom vakum, dengan fase diam silika gel dan fase gerak menggunakan gradien kepolaran bertingkat. Larutan fraksi semi polar dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi semi polar ekstrak etanol daging buah sirsak.

3. Identifikasi Bakteri

Suspensi bakteri diambil 1 ujung mata ose dan diratakan pada gelas obyek yang telah dibebaskan dengan dipanasi di atas nyala Bunsen hingga kering kemudian ditetesi formalin 1% ditunggu 5 menit kemudian dikeringkan lagi dan preparat siap dicat. Preparat yang telah siap dicat digenangi dengan cat Gram A selama 1–3 menit kemudian digenangi cat Gram B selama 0,5–1 menit, setelah itu cat dibuang dan dicuci dengan air. Preparat kemudian ditetesi cat Gram C sampai warna cat dilunturkan. Setelah itu preparat digenangi cat Gram D selama 1–2 menit kemudian dicuci dan dikeringkan dalam udara kamar. Preparat siap diperiksa di bawah mikroskop pada perbesaran lensa obyektif x lensa okuler 1000x.

4. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak

Pembuatan larutan stok 5% dengan cara 400mg fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak dilarutkan dengan CMC Na sampai 5 mL. Fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak (*Annona muricata* L.) dibuat seri konsentrasi 2% b/v; 1,75% b/v; 1,5% b/v; 1,25% b/v; dan 1% b/v. Stok awal 5% masing-masing diambil 2000 μ L; 1750 μ L; 1500 μ L; 1250 μ L dan 1000 μ L, kemudian masing-masing ditambah CMC Na add 2 ml dan ditambahkan media sampai 5 mL, sehingga didapat konsentrasi 2% b/v; 1,75% b/v; 1,5% b/v; 1,25% b/v; dan 1% b/v. Dipadatkan dalam tabung kemudian diinokulasi 15 μ L suspensi bakteri yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (standar Mc.Farland). Setelah itu

diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Pengujian direplikasi sebanyak tiga kali.

5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak

Fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak dilarutkan dalam pelarut yang sesuai yaitu metanol. Larutan sampel ditotolkan pada lempeng KLT yaitu silika gel GF 254 yang merupakan fase diam, kemudian totalan tersebut dielusi dengan fase gerak yang sesuai, yang menghasilkan pemisahan yang baik. Pemilihan fase gerak sebelumnya dilakukan orientasi terlebih dahulu (dengan perbandingan yang berbeda). Hasil orientasi fase gerak didapatkan kloroform : metanol (7:3) untuk fase gerak untuk deteksi senyawa flavonoid dan saponin. Penentuan fase gerak dilakukan dengan mencari fase gerak dengan perbandingan yang tepat. Lempeng tersebut kemudian dikeringkan dan diangin-anginkan, kemudian diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Setelah itu permukaan lempeng disemprot dengan Sitroborat dan Liebermann Burchard (LB) untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam fraksi semi polar ekstrak etanol daging buah sirsak.

6. Bioautografi

Untuk mendeteksi senyawa aktif yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri digunakan metode bioautografi dengan cara kromatogram diletakkan pada permukaan media MH dalam petri yang telah diinokulasi dengan bakteri *P.aeruginosa*, *S. sonnei*, dan *S. aureus* selama 20 menit. Setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Bila bercak-bercak pada kromatogram tersebut memiliki aktivitas antibakteri maka dengan adanya difusi golongan senyawa aktif akan terbentuk zona jernih yang merupakan zona hambatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Hasil determinasi membuktikan bahwa daging buah yang digunakan berasal dari buah sirsak (*Annona muricata* L).

2. Pembuatan fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak

Ekstraksi daging buah sirsak dibuat simplisia dengan cara dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan *blender*. Selanjutnya dimaserasi

menggunakan pelarut etanol 96% kemudian di saring dan di uapkan sehingga didapat ekstrak etanol daging buah sirsak. Simplisia seberat 2 kg menghasilkan 526,67 mg ekstrak etanol (rendemen 26,33%). Fraksi semipolar diperoleh dengan metode KCV (Kromatografi Kolom Vakum). Sebanyak 109,26 mg ekstrak etanol diperoleh 4,20 mg fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak (rendemen 3,8%).

3. Identifikasi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat dan bergerombol tersusun seperti anggur serta berwarna ungu (Jawetz *et al.*, 2001). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk batang, terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai yang pendek. Sedangkan bakteri *Shigella sonnei* berbentuk kokobasil bulat transparan (Jawetz *et al.*, 2001).

Berdasarkan hasil uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* pada media KIA bagian tegak dan miring berwarna merah karena tidak memfermentasi glukosa (Jawetz *et al.*, 2001) dan membentuk suasana asam, selain itu *Pseudomonas aeruginosa* tidak memproduksi H₂S hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media. Pada media LIA terjadi reaksi lisin dekarboksilase dan bersifat basa (Alexander & Niles, 2004) yang ditandai dengan media tetap berwarna ungu. Uji pada media MIO terdapat pergerakan yang ditandai dengan adanya kabut dan tetap berwarna ungu (Jawetz *et al.*, 2001) karena terjadi reaksi dekarboksilase ornitin. Pada media simon sitrat bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan menghilangkan sifat asam dari media yang menyebabkan peningkatan pH sehingga terjadi perubahan warna hijau menjadi biru (Sulistyaningsih, 2010).

Shigella sonnei meragikan glukosa dan tidak meragikan laktosa. Bakteri ini membentuk asam dari karbohidrat, tetapi jarang menghasilkan gas, serta bersifat non motil (Jawetz *et al.*, 2001). Hasil uji biokimia pada media KIA bagian tegak berwarna kuning yang bersifat asam (memfermentasi glukosa) dan bagian miring berwarna merah yang bersifat basa (tidak memfermentasi laktosa). Media LIA pada bagian tegak dan miring berwarna ungu yang menandakan bakteri dapat mendekarboksilasi lisin dan pada media MIO tetap berwarna ungu karena mampu

mendekarboksilasi ornitin dan bersifat non motil karena tidak terdapat kabut. *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol (Jawetz *et al.*, 2001). Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol yang akan menghasilkan asam sehingga mengubah indikator fenol merah menjadi kuning.

4. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak

Hasil penelitian menunjukkan fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi berturut-turut 1,5%, 0,5% dan 0,75% (Tabel 1). KHM terhadap *Pseudomonas aeruginosa* lebih besar dibandingkan dengan KHM terhadap *Shigella sonnei* yang sama-sama merupakan bakteri gram negatif karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki sistem pertahanan biofilm serta lipopolisakarida yang merupakan salah satu faktor virulensi yang melindungi sel bakteri (Todar, 2004). Menurut Pelczar & Chan (1998) bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang tebal dan kandungan lipid rendah serta peptidoglikan tunggal. Sedangkan bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel berlapis dan kandungan lipid yang tinggi serta peptidoglikan yang lapisan didalamnya kaku. Hasil uji menunjukkan bahwa KHM *Shigella sonnei* (Gram negatif) lebih rendah dari KHM *Staphylococcus aureus* (Gram positif) karena bakteri Gram positif mempunyai lapisan peptidoglikan yang kaku sehingga sulit untuk dirusak oleh senyawa antibakteri.

Tabel 1. Uji aktivitas antibakteri fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak

Konsentrasi (%) b/v	Hasil pertumbuhan bakteri		
	I	II	III
1,5%	terhambat	terhambat	terhambat
1,25%	terhambat	terhambat	terhambat
1%	terhambat	terhambat	terhambat
0,75%	terhambat	terhambat	terhambat
0,5%	Tidak terhambat	Tidak terhambat	Tidak terhambat
Kontrol bakteri	Tidak terhambat	Tidak terhambat	Tidak terhambat
Kontrol CMC	Tidak terhambat	Tidak terhambat	Tidak terhambat
Kontrol media	Tidak terdapat pertumbuhan bakteri	Tidak terdapat pertumbuhan bakteri	Tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Tabel 2. Hasil uji fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (%) b/v	Hasil Pertumbuhan bakteri		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
2%	-	*	*
1,75%	-	*	*
1,5%	-	*	-
1,25%	+	*	-
1%	+	*	-
0,75 %	*	*	-
0,5%	*	-	+
0,4 %	*	+	*
0,3%	*	+	*
Kontrol bakteri	+	+	+
Kontrol CMC	+	+	+
Kontrol media	-	-	-

Keterangan:

- Terhambat
- + Tidak terhambat

5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak

Analisis kualitatif fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam fraksi semipolar yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Deteksi bercak dapat dilihat dengan sinar UV 254, UV 366, dan pereaksi-pereaksi semprot yang spesifik digunakan untuk penampak bercak. Konsentrasi fraksi semipolar yang digunakan untuk uji yaitu 10% b/v dilarutkan dalam metanol. Larutan tersebut selanjutnya ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan fase gerak hasil optimasi yaitu kloroform:metanol (7:3) v/v.

Setelah plat KLT dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol (7:3) v/v dan dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian bercak dideteksi dengan pereaksi semprot FeCl₃ untuk deteksi fenolik, sitroborat untuk deteksi flavonoid, dragendorff untuk deteksi alkaloid, dan Liebermann-Burchard untuk deteksi saponin dan terpenoid (Wagner dan Bladt, 1996).

Senyawa flavonoid jika diamati pada UV 254 nm akan terjadi pepadaman, sedangkan pada UV 366 nm akan memberikan fluoresensi kuning, hijau atau biru (Wagner dan Bladt, 1996). Flavonoid dideteksi menggunakan pereaksi semprot sitroborat yang dipanaskan selama 5-10 menit pada suhu 100⁰C, diamati pada UV 366 nm berfluoresensi hijau yakni pada Rf 0,13, 0,28, 0,35, 0,45 dan 0,60.

Senyawa alkaloid dideteksi menggunakan pereaksi semprot dragendorff yang akan memberikan warna *orange* atau coklat (Wagner dan Bladt, 1996) pada Rf 0,13, 0,93 dan 0,98. Deteksi senyawa terpenoid dengan pereaksi semprot Liebermann-Burchard akan memberikan warna abu-abu sampai merah-coklat (Wagner dan Bladt, 1996) terdapat pada Rf 0,13, 0,88 dan 0,93. Berdasarkan uji KLT golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak adalah flavonoid, alkaloid dan terpenoid.

Tabel 2. Hasil analisis KLT fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak

Bercak	Rf	Deteksi					
		UV 254 nm	UV 366 nm	Dragendorf (visual)	LB (visual)	Sitroborat (UV 366 nm)	Perkiraan senyawa
1	0,13	-	-	Orange kekuningan	Abu-abu	f. hijau	Alkaloid, Terpenoid, flavonoid
2	0,28	Padam	-	-	-	f. hijau	Flavonoid
3	0,35	-	-	-	-	f. hijau	Flavonoid
4	0,45	Padam	-	-	-	f. hijau	Flavonoid
5	0,60	Padam	-	-	-	f. hijau	Flavonoid
6	0,80	Padam	-	-	-	-	-
7	0,88	-	-	-	Abu-abu	-	Terpenoid
8	0,93	-	-	Orange kekuningan	Abu-abu	-	Alkaloid, terpenoid
9	0,98	-	-	Orange kekuningan	-	-	Alkaloid

Senyawa kimia yang terdapat dalam *Annona muricata* antara lain adalah alkaloid yang terdiri dari *reticulin*, *coreximine*, *coclaurine*, *anomurine* (Sousa *et al.*, 2010) dan *murisine* (Hariana, 2006). Pada daun, akar, dan kulit batang sirsak terdapat alkaloid *isoquinoline* yaitu retikulin (alkaloid utama), *coclaurine*, *coreximine* (Sousa *et al.*, 2010), *atherosperminine*, *stepharine*, *anomurine* dan *anomuricine* (Leboeuf *et al.*, 1981). Alkaloid *annonaine*, *nornuciferine*, dan *asimilobine* dapat diisolasi dari buah sirsak (Baskar *et al.*, 2007). Selain alkaloid terdapat juga minyak esensial (β -*caryophyllen*, δ -*cadinene*, *epi- α -cadinol* dan α -*cadinol*) (Sousa *et al.*, 2010). Terdapat juga mono-seskuiterpen α - and β -*pinene*, *myrcene*, *p-cymene*, *limonene* (Ekundayo O, 1989). Menurut Nawwar *et al.*, (2012) pada daun sirsak terdapat senyawa flavonol triglikosida yaitu quersetin 3-O- α -ramnosil dan β -*sophoroside*.

6. Bioautografi

Uji bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak

yang mempunyai aktivitas antibakteri. Senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya zona jernih disekitar bercak.

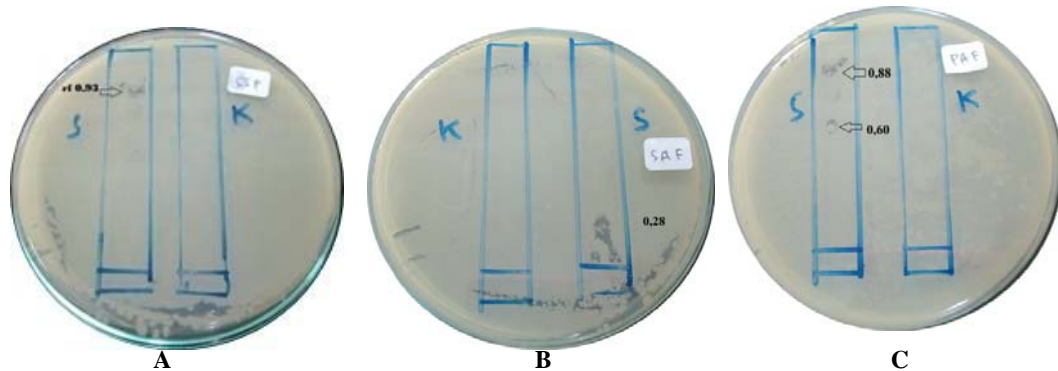
Hasil uji bioautografi fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap *Shigella sonnei* menunjukkan terdapat bercak jernih yang mempunyai Rf 0,93 (Gambar 1A) yang merupakan senyawa terpenoid dan alkaloid. Hasil uji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bercak jernih pada Rf 0,28 (Gambar 1B) yang merupakan senyawa flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Uji terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* bercak jernih terdapat pada Rf 0,60 yang merupakan senyawa flavonoid dan senyawa terpenoid pada Rf 0,88 (Gambar 1C).

Senyawa kimia yang terdapat dalam daun, akar, dan kulit batang *Annona muricata* antara lain adalah alkaloid *isoquinoline* yang terdiri dari *reticuline* (alkaloid utama), *coreximine*, *coclaurine*, *anomurine* (Sousa *et al.*, 2010), *atherosperminine*, *stepharine*, *anomuricine* (Leboeuf *et al.*, 1981) dan *murisine* (Hariana, 2006). Alkaloid *annonaine*, *nornuciferine*, dan *asimilobine* dapat diisolasi dari buah sirsak (Baskar *et al.*, 2007) yang mempunyai efek antidepresan (Sandra *et al.*, 2012). Senyawa *annonaine* dapat menghambat *Bacillus cereus* dan *Micrococussp.* serta mempunyai aktivitas sebagai antijamur (Tsai *et al.*, 1989), dapat juga digunakan sebagai antikanker (Chen *et al.*, 2008). Menurut Costa (2011) senyawa aktif yang digunakan sebagai antibakteri adalah *annonaine* dan *asimilobine*.

Menurut Nawwar M. (2012) pada daun sirsak terdapat senyawa flavonol triglikosida yaitu kuersetin 3-O- α -ramnosil dan β -*sophoroside*. Kuersetin 3-O- α -ramnosil dapat menghambat DNA gyrase (Cushnie and Lamb, 2005), digunakan sebagai antidiabetes dan antioksidan (Sandra *et al.*, 2012). Minyak esensial yang terdapat dalam buah sirsak adalah β -*caryophyllen*, δ -*cadinene*, *epi- α -cadinol* dan α -*cadinol* (Sousa *et al.*, 2010). Terdapat juga mono-seskuiterpen α - dan β -*pinene*, *myrcene*, *p-cymene*, *limonene* (Ekundayo O, 1989). β -*caryophyllen*, α - dan β -*pinene* menunjukkan aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* (Almeida *et al.*, 2010).

Mekanisme antibakteri terpenoid dengan menghasilkan membran yang mengganggu komponen lipofilik dinding sel bakteri sedangkan flavonoid bekerja meluruhkan dinding sel bakteri dengan berikatan kompleks pada dinding sel dan

melarutkan protein penyusun dinding sel bakteri (Cowan, 1999). Menurut Cushnie and Lamb (2005) senyawa flavonoid dapat berikatan dengan peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga terjadi pengendapan protein yang selanjutnya dapat menghambat proses biosintesis peptidoglikan dan menghambat DNA gyrase. Alkaloid dapat merusak sintesis dinding sel sehingga dapat menyebabkan sel menjadi lisis.



Gambar 1. Hasil uji bioautografi fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap *Shigella sonnei* (A), *Staphylococcus aureus* (B) dan *Pseudomonas aeruginosa*(C)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Shigella sonnei* dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) masing-masing sebesar 1,5%, 0,5% dan 0,75%.
2. Golongan senyawa dari fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri baik terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Shigella sonnei* merupakan senyawa golongan flavonoid, terpenoid, dan alkaloid.

SARAN

1. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi lebih lanjut senyawa-senyawa antibakteri yang terdapat dalam fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak.
2. Perlu dilakukan optimasi fase gerak yang sesuai untuk memisahkan senyawa antibakteri yang terdapat dalam fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak.

DAFTAR ACUAN

- Alexander, S. K., Strete, D., & Niles, M. J., 2004, *Laboratory Exercises in Organismal and Molecular Microbiology*, 175, New York, McGraw-Hill.
- Almeida, J., Facanali, R., Vieira, M., Marques, M., Lúcio, A., Lima, E., *et al.*, 2010, Composition and Antimicrobial Activity of the Leaf Essential Oils of *Duguetia gardneriana* Mart. And *Duguetia moricandiana* Mart. (Annonaceae), *Journal of Essential Oil Research*, **22**(3):275-278.
- Backer, C. A. & Van Den Brink, R.C.B., 1965, *Flora of Java: Spermatophytes only*, (1), 116, N.V.P. Noordhoff-Groningen-The Netherlands,.
- Baskar, R., Rajeswari, V. & Kumar, T. S., 2007, In vitro antioxidant studies in leaves of *Annona* species, *Indian J Exp Biol*, **45**(5):480-5.
- Chen, C., Liu, T., Tseng, W., Lu, F., Hung, R., Chen, C., *et al.*, 2008, Anonaine induces apoptosis through Bax- and caspase-dependent pathways in human cervical cancer (HeLa) cells, *Food and Chemical Toxicology*, **48**(8):2694–2702.
- Costa, E., Oliveira da Cruz, P., Caramano de Lourenço, C., Regina de Souza, M., Cesar de Lima, N. & Salvador, M., 2011, Antioxidant and antimicrobial activities of aporphinoids and other alkaloids from the bark of *Annonasalzmannii* A. DC. (Annonaceae), *Taylor & Francis Online*.
- Cowan, M. M., 1999, Plant Products as Antimicrobial Agents, *American Society for Microbiology*, **12** (4), 564-582.
- Chotirmall, S. H., Smith, S. G., Gunaratnam, C., Cosgrove, S., Dimitrov, B. D., O'neill, *et al.*, 2012, Effect of Estrogen on *Pseudomonas Mucoidy* and Exacerbations in Cystic Fibrosis, *New England Journal of Medicine*, 366:1978-1986.
- Chusin & Lamb, 2005, Antimicrobial activity of flavonoids, *International Journal of Antimicrobial Agents*, (26): 343–356.
- Deldar, A. A., & Yakhchali, B., 2011, The Influence of Riboflavin and Nicotinic Acid on *Shigella sonnei* Colony Conversion, *Iranian Journal of Microbiology*, **3**(1), 13-20.
- Ekundayo, O., 1989, A Review of the Volatiles of the *Annonaceae*, *Journal of Essential Oil Research*, **1**(5): 223-245.
- Entjang, I., 2003, *Mikrobiologi & Parasitologi untuk Akademi Keperawatan*, Bandung, Citra Aditya Bakti.
- Hariana, A., 2006, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3*, Jakarta, Penebar Swadaya.
- Jaramillo, M.C., Arango, G.J., Gonzales, M.C., Robledo, M.S., & Velez, I.D., 2000, Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* L pericarp., *Fitoterapia*, **71**(2), 183-186.

- Leboeuf, M., Legueut, C., Cavé, A., Desconclois, J.F., Forgacs, P. & Jacquemin, H., 1981, Alkaloids of Annonaceae. XXIX. Alkaloids of *Annona muricata*, *Planta Med*, **42**(1):37-44.
- Lindquist, J., 2010, *Differential Media: Multipurpose Enteric Screening Media* Department of Bacteriology, U.W.-Madison.
- Lúcio, A., Almeida, J., Filho, J., Pita, J., Branco, M., Diniz, M., *et al.*, Azaphenanthrene Alkaloids with Antitumoral Activity from *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague & Sandwith (*Annonaceae*), *Molecule*, **16**, 7125-7131.
- Nawwar, M., Ayoub, N., Hussein, S., Hashim, A., El-Sharawy, R., Wende, K., *et al.*, 2012, A flavonol triglycoside and investigation of the antioxidant and cell stimulating activities of *Annona muricata* Linn, *Arch Pharm Res*, **35** (5):761-7.
- Ocampo, S., Diana, M., Betancur, J., Luz A. Ortiz, Aristófeles O. C. & Rogelio, 2007, Comparative chromatographic study of fatty acids present in *Annona cherimolioides* and *Annona muricata* L seed, *Vector*, **2**: 103 – 112.
- Octavia, L., 2003, *Uji Antibakteri, Penentuan Kadar Vitamin C, dan Gula Total dalam Buah Sirsak, Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bogor, Institut Pertanian Bogor.
- Okunomo, K. & Egho, E., 2010, Economic Importance of Some Underexploited Tree Species in Nigeria: Urgent need for Separate Research Centers, *Continental J. Biological Sciences, Wilolud Journal*, **3**: 16 – 32.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S., 2007, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S. & Angka, S. L., 169-170, Jakarta, Universitas Indonesia Press.
- Pinto, A., Cordeiro, M., Andrade, S., Ferreira, F., Filgueiras, H., Alves, R., *et al.*, 2005, *Annona Spesies*, International Centre For Underutilized Crops, Southampton, University of Southampton.
- Prachi, P., 2010, In Vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of The Leaves *Annona muricata*, *International Journal of Pharma Research and Development*, **5**, 1-6.
- Rajeswari, Galakshmi & Vijayalakshmi, 2011, Phytochemical and Pharmacological Properties of *Annona muricata*, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical*, **4** (2).
- Rojas, I., Santiago, R., Arvizu, G., Munoz, D. & Sucilla, D., 2004, *Análisis Químico Y biológico Preliminar de Las Semillas de Annona muricata L. (Annonaceae)*, Skripsi, Universitas Simon Bolivar.

- Sandra, M., Ricardo de A., Flavia, M., Cincotto, S., Landgraf, P., Cressoni, E., *et al.*, 2012, *Annona* sp: Plants with Multiple Applications as Alternative Medicine, *Current Bioactive Compounds*, Bentham Science Publishers, **8**(3): 277-286(10).
- Saputro, H., 2011, Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Propionibacterium acne*, *Skripsi*, Surakarta, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sousa, O., Vieira, G., Pinho, J., Yamamoto, C. & Alves, M., 2010, Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* Linn Leave in Animal Models, *International Journal of Molecular Sciences*, **11**, 2067-2078.
- Sulistyaningsih, 2010, Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dan *Pseudomonas aeruginosa* Multi Resisten (PAMR), Laporan Penelitian: Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.
- Taylor, L., 2002, *Herbal Secrets of the Rainforest*, Second Ed., Sage Press, Inc. 1-4.
- Todar, K., 2004. *Textbook of Bacteriology: Pseudomonas Aeruginosa*. University of Winconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Tsai, I.L., Liou, Y.F. & Lu, S.T., 1989, *Screening of isoquinoline alkaloids and their derivatives for antibacterial and antifungal activities*, **5**(3):132-45.
- Umadevi, K., Vanitha, V. & Vijayalakshmi, K., 2011, Antimicrobial Activity of Three Indian Medicinal Plants-An In Vitro, *The Bioscan An International Quarterly Journal Of Life Sciences*, **6**(1) : 25-28.
- Vieira, G., Moura, J., Angelo, A., Costa, R. & Vieira, R., 2010, Antibacterial Effect (in vitro) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* Against Gram Positive and Gram Negative, *Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, **52**(3), 129-132.
- Vijayakumar, A. D. & Thangavel, K. P., 2011, Antioxidant and antimicrobial activity using different extracts of *Anacardium occidentale* L., *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology (IJABPT)*, **2**(3), 436-443.
- Vijayameena, C., Subhashini, M., Loganayagi, M., & Ramesh, B., 2013, Phytochemical screening and assessment of antibacterial activity for the bioactive compounds in *Annona muricata*, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **2**(1): 1-8.
- Wagner, H. & Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Ed., 350, New York, Springer.