

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

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 ( *$\beta$ -caryophyllen*,  *$\delta$ -cadinene*, *epi- $\alpha$ -cadinol* dan  *$\alpha$ -cadinol*) (Sousa *et al.*, 2010). Terdapat juga mono-seskuiterpen  *$\alpha$ - and  $\beta$ -pinene*, *myrcene*, *p-cymene*, *limonene* (Ekundayo O, 1989). Menurut Nawwar *et al.* (2012) pada daun sirsak terdapat senyawa flavonol triglikosida yaitu quersetin 3-O- $\alpha$ -ramnosil dan  $\beta$ -*sophoroside*.

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

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Berapa Kadar Hambat Minimum (KHM) fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, dan *Staphylococcus aureus*?
2. Senyawa golongan apa yang terkandung dalam fraksi semipolar ekstrak etanol daging buah sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*?

### C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah maka tujuan pada penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri dan Kadar Hambat Minimal (KHM) fraksi semi polar ekstrak etanol daging buah sirsak terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi padat.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi semi polar ekstrak etanol daging buah sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi.

### D. Tinjauan Pustaka

#### 1. Tumbuhan sirsak (*Annona muricata* Linn)

##### a. Klasifikasi tumbuhan sirsak

Klasifikasi tumbuhan sirsak yang digunakan sebagai berikut:

- Kingdom : *Plantae*  
 Divisio : *Spermatophyta*  
 Sub Divisio : *Angiospermae*  
 Kelas : *Dicotyledone*  
 Ordo : *Polycarpiceae*  
 Famili : *Annonaceae*  
 Genus : *Annona*  
 Spesies : *Annona muricata* Linn (Backer & Van Den Brink, 1965).  
 Nama daerah : swirswak (Jawa), nangka walanda (Sunda), deureuyan balandan (Aceh), durian batawi (Minangkabau).  
 Nama asing : soursop (Inggris).

##### b. Kandungan kimia dan efek farmakologis

Secara fitokimia spesies dari keluarga Annonaceae memiliki kandungan acetogenin, alkaloid dan triterpenoid (Lucio *et al.*, 2011). Buah sirsak dapat digunakan sebagai antioksidan, mengobati asam urat, hipertensi, kolesterol dan

diare. Dalam daun sirsak, zatnya dapat menumpas kanker (Hastomi & Engga, 2011).

## **2. Metode Penyarian**

Metode penyarian yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Hasil dari maserasi disebut dengan maserat. Maserat inilah yang mengandung ekstrak dari tanaman yang dimaserasi. Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental, dan cair (Anief M., 2006).

## **3. Fraksinasi**

Kromatografi kolom dimana satu larutan pekat senyawa yang diperiksa dimasukkan dalam kolom, kemudian pelarut elusi ditambahkan dan sedapat mungkin dibiarkan mengalir pada suhu dan kecepatan konstan sampai tercapai pemisahan, campuran senyawa akan terpisah (Roth & Gottfried, 1998).

Kromatografi yang digunakan untuk fraksinasi adalah kromatografi cair vakum. Kolom kromatografi dikemas kering dalam keadaan vacum agar diperoleh kerapatan yang maksimum. Kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok mulai dari pelarut yang kepolarannya rendah ke tinggi, kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Kromatografi cair vacum menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak (Hostettmann & Hostettman, 1995).

## **4. Bakteri**

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif bersifat motil dan berbentuk batang, terlihat sebagai bakteri tunggal dan berpasangan. Tumbuh dengan baik pada suhu 37-42<sup>0</sup>C. Bakteri ini bersifat oksidase positif dan tidak meragikan karbohidrat. Bakteri ini hanya bersifat patogen bila masuk kedaerah yang fungsi pertahanannya abnormal (Jawetz *et al.*, 1996). *Shigella sonnei* adalah bakteri Gram-negatif berbentuk kokobasil ditemukan pada biakan muda, bersifat fakultatif anaerob tetapi paling baik tumbuh secara aerobik. Koloninya konveks, bulat, transparan. Bakteri ini membentuk asam dari karbohidrat, tetapi jarang

menghasilkan gas, dapat dibedakan menjadi bakteri yang meragikan manitol dan yang tidak (Jawetz *et al.*, 1996). *Staphylococcus aureus* berbentuk sferis, bergerombol, tidak bergerak. Suhu pertumbuhan optimum adalah 35<sup>0</sup>C. Pertumbuhan terbaik dan khas adalah aerob, kuman ini juga bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang mengandung hidrogen dan pH 7,4 (Jawetz *et al.*, 1996).

**Tabel 1. Klasifikasi bakteri**

Bakteri	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Filum	<i>Proteobacteria</i>	<i>Proteobacteria</i>	<i>Protophyta</i>
Kelas	<i>Gamma Proteobacteria</i>	<i>Gamma Proteobacteria</i>	<i>Schizomycetes</i>
Bangsa	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Eubacteriales</i>
Suku	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Micrococcaceae</i>
Marga	<i>Pseudomonas</i>	<i>Shigella</i>	<i>Staphylococcus</i>
spesies	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

(NCBI, 2012)

## 5. Antibakteri

Suatu zat untuk dapat berguna sebagai antibakteri harus dapat menghambat pertumbuhan atau dapat membunuh bakteri patogen tetapi tanpa membahayakan manusia atau mempunyai sifat toksisitas selektif (Batubara, 2008).

Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah kadar minimal untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Kadar bunuh minimal (KBM) adalah kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroba. Jika kadar obat dibawah KHM atau KBM, efek terapi tidak dapat tercapai. Nilai KHM dan KBM suatu obat terhadap bakteri berubah sesuai perubahan resistensinya (Batubara, 2008).

## 6. Uji Aktivitas Antibakteri

Pada uji ini diukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba yang bertujuan memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien (Pratiwi, 2008).

Terdapat dua macam metode yang digunakan untuk uji antimikroba:

- a. Metode dilusi
- b. Metode difusi

Metode yang digunakan adalah metode dilusi padat yang serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat, metode ini digunakan untuk

mengukur KBM dan KHM dengan cara membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium padat yang ditambahkan dengan mikroba uji (Pratiwi, 2008).

### 7. Kromatografi Lapis Tipis

Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*). Fase diam yang sering digunakan adalah silika yang memiliki mekanisme adsorpsi (Gandjar & Rohman, 2007).

Harga Rf merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram.

$$R_f = \frac{\text{jaraktitikengahnodadaritikawal}}{\text{jaraktepimukapelarutdaritikawal}} \text{ (Gandjar \& Rohman, 2007).}$$

Harga Rf untuk senyawa yang terpisah selalu lebih kecil dari 1 dan secara teoritik tidak tergantung dari panjang kertas kromatogram (Roth & Gottfried, 1998).

### 8. Bioautografi

Uji bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT (kromatografi lapis tipis) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus, sehingga mendekati metode separasi dengan uji biologis.

Keuntungan metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut. Sedangkan kerugiannya adalah metode ini tidak dapat menentukan KHM dan KBM.

Metode bioautografi yang digunakan adalah metode bioautografi langsung dengan menyemprotkan plat KLT dengan suspensi mikroorganisme ataupun dengan menyentuhkan plat KLT pada permukaan media Agar yang telah ditanami mikroorganisme. Setelah inkubasi pada waktu tertentu, letak senyawa aktif tampak sebagai area jernih dengan latar belakang keruh (Pratiwi, 2008).

### E. Landasan Teori

Potensi antimikroba dari beberapa fraksi aktif ekstrak organik *Annona muricata* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Rojas *et al.*, 2004). Ekstrak metanol daun *Annona muricata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 0,6% (Prachi, 2003). 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).

Tanaman sirsak mengandung senyawa bioaktif diantaranya terpenoid, flavonoid, dan minyak esensial yang mempunyai aktivitas insektisida, sitotoksik, antitumor, antibakteri, pestisida, dan antimalaria (Ocampo *et al.*, 2007). Senyawa golongan flavonoid terdapat dalam fraksi semipolar ekstrak etanol daun sirsak yang mampu menghambat *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan KHM masing-masing sebesar 3,5% dan 4%b/v (Saputro, 2011).

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

### F. Hipotesis

Fraksi semi polar ekstrak etanol daging buah sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, dan *Staphylococcus aureus*.