

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTING OF N-HEXANE FRACTION OF RED DRAGON (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) FRUIT PEEL ON *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI n-HEKSAN KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Sri Amalia*), Sri Wahdaningsih and Eka Kartika Untari

Department of Pharmacy, Faculty of Medical, Tanjungpura University, Pontianak, 78124, Indonesia

ABSTRACT

Inappropriate antibiotic use was one of the main reason that caused pathogenic microorganism resistance, leads to ineffective treatment. One of those resistance bacteria is Staphylococcus aureus. The research for discovering new antibiotics can help with this issue. The peel of red dragon fruit (Hylocereus polyrhizus) is one of the plants that has antibacterial compounds. The aim of this research is to prove and determine the clear zone value of n-hexane fraction of red dragon fruit's peel againsts Staphylococcus aureus ATCC 2593. The peel was maserated with chloroform, then fractinated by n-hexane. Futhermore, the antibacterial properties of the fraction was tested using Disc Diffusion (Kirby-Bauer) methode with 20 and 40 mg/mL concentrations. Ampicillin used as control positive, and Dymetil sulfoxida (DMSO) used as control negative . Based on the phytochemical screening of the fraction, the n-hexane fraction of the dragon fruit's peel contain terpenoid and alkaloid. Clear zones produced by 40 mg/mL is 12.80±1,69 mm and for 20 mg/mL is 11.17±1,11 mm.

Keywords: Antibacterial, n-Hexane fraction, Red dragon fruit's peel, Staphylococcus aureus ATCC 2593.

ABSTRAK

Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai menyebabkan mikroorganisme patogen menjadi resisten sehingga pengobatan infeksi menjadi tidak efektif. Salah satu bakteri yang saat ini mengalami resistensi adalah Staphylococcus aureus. Penemuan senyawa antibiotik baru yang belum mengalami resistensi menjadi solusi untuk mengatasi permasalahan ini. Kulit buah naga merah (Hylocereus polyrhizus) merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas dan diameter zona hambat yang dihasilkan fraksi n-heksan kulit buah naga merah terhadap bakteri Staphylococcus aureus ATCC 2593. Kulit buah naga merah dimaserasi menggunakan kloroform, kemudian difraksinasi dengan pelarut n-heksan. Hasil fraksinasi diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode Disc Diffusion (Kirby-Bauer) dengan variasi konsentrasi 20 dan 40 mg/mL. Kontrol positif yang digunakan adalah ampicilin dan kontrol negatif yang digunakan adalah Dimetil sulfoksida (DMSO). Berdasarkan skrining fitokimia fraksi n-heksan kulit buah naga merah mengandung terpenoid dan alkaloid. Zona hambat yang dihasilkan oleh konsentrasi 40 mg/mL adalah 12,80±1,69 mm dan konsentrasi 20 mg/mL adalah 11,17±1,11 mm.

Kata kunci: Antibakteri, fraksi n-heksan, kulit buah naga merah, Staphylococcus aureus ATCC 2593

PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan senyawa yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri. Permasalahan penggunaan antibiotik saat ini dalam pengobatan adalah resistensi antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai menyebabkan mikroorganisme patogen menjadi

resisten sehingga pengobatan infeksi menjadi tidak efektif. Salah satu bakteri yang mengalami resistensi adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada saluran pernapasan atas, tangan, dan rambut. Bakteri ini dapat menyebabkan keracunan dan kerusakan pada kulit (Melliawati, 2009).

Penemuan senyawa antibiotik baru yang belum mengalami resistensi menjadi salah satu solusi alternatif untuk mengatasi permasalahan

Corresponding author : Sri Amalia
Email: melly.amalia14@yahoo.com

ini. Senyawa tersebut dapat diperoleh dari tanaman. Tanaman memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dengan mekanisme aksi yang baru dan belum mengalami resistensi. Tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri salah satunya adalah buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose).

Buah naga merah merupakan buah dari suku Cactaceae, yang mulai banyak dikonsumsi di Indonesia. Buah naga merah secara berkala dapat mencegah dan mengobati osteoporosis, hipertensi, diabetes dan menurunkan kolesterol (Warisno, 2010). Penelitian mengenai khasiat buah naga merah juga telah banyak dilakukan. Buah naga merah memiliki khasiat sebagai antihepatotoksik (Latif dkk, 2006), antioksidan (Wu, 2000) dan hipokolesterole-mik (Khalili, 2010). Pemanfaatan buah naga merah hanya terpaku pada daging buahnya, sedangkan kulitnya belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian membuktikan bahwa fraksi n-heksan *Opuntia humifusa* yang memiliki kedekatan famili dengan buah naga merah mempunyai aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. Penelitian Nurmahani juga membuktikan bahwa ekstrak n-heksan, kloroform dan etanol kulit buah naga merah memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri Gram positif dan Gram negatif (Nurmahani, 2012).

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri pada kulit buah naga merah hanya sebatas proses ekstraksi, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut hingga proses fraksinasi. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi kulit buah naga merah sebagai alternatif pengobatan antibakteri alami pada *Staphylococcus aureus*.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit buah naga merah, kloroform, n-heksan, dimethylsulfoksida (DMSO), aquades, ampisilin, Mueller Hinton Agar (MHA), dan Mc Farland 0,5. Alat yang digunakan yaitu corong pisah, rotary evaporator, jarus ose, cawan petri, dan jangka sorong, inkubator dan otoklaf.

Pembuatan fraksi n-heksan kulit buah naga merah

Sampel yang digunakan adalah 8 kg kulit dari buah naga merah yang didapat di Perkebunan Petani Mekar Sari Kecamatan Segedong, Kabupaten Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat. Kulit tersebut dicuci dengan air mengalir, kemudian dirajang dan disortasi basah. Setelah itu dikeringkan dan diblender hingga menjadi simplisia. Simplisia kemudian dimaserasi

menggunakan pelarut kloroform selama 7 hari. Ekstrak kloroform kemudian difraksinasi cair-cair dengan pelarut n-heksan. Fraksi n-heksan kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dan dilakukan skrining fitokimia (alkaloid, tanin, polifenol, terpenoid, steroid, saponin dan flavonoid).

Pembuatan variasi konsentrasi fraksi n-heksan kulit buah naga merah

Larutan stok fraksi n-heksan kulit buah naga merah adalah 80 mg/mL, dengan melarutkan sebanyak 800mg fraksi n-heksan pada DMSO 10% dalam 10mL aquades. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat untuk membuat konsentrasi 40 dan 20mg/mL

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksan kulit buah naga merah

Aktivitas antibakteri sampel dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Pengujian menggunakan metode *Disc diffusion* (Kirby Bauer). Bakteri dari media peremajaannya diinokulasikan pada media MHA yang telah padat. Kemudian ditetaskan 20µL fraksi n-heksan kulit buah naga merah dengan berbagai konsentrasi pada cakram kertas (6mm), kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24jam, setelah itu diukur diameter zona hambat atau zona bening dengan jangka sorong (ICMR, 2009). Kontrol positif yang digunakan adalah ampisilin 20µg. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia telah dilakukan terhadap fraksi n-heksan kulit buah naga merah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan kulit buah naga merah menunjukkan hasil positif terhadap pemeriksaan alkaloid dan terpenoid. Sedangkan senyawa fenolik, tanin, flavonoid, steroid dan saponin menunjukkan hasil negatif. Hasil skrining terdapat pada Tabel 1; Gambar 1 dan 2.

Uji aktivitas antibakteri

Penentuan aktivitas antibakteri fraksi n-heksan kulit buah naga merah dilakukan dengan metode *disc diffusion* Kirby-Bauer yaitu penentuan sensitivitas bakteri dengan suatu zat tertentu yang kemungkinan memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan cakram kertas. Hasil uji aktivitas fraksi n-heksan kulit buah naga merah terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah konsentrasi 40 dan 20mg/mL memiliki

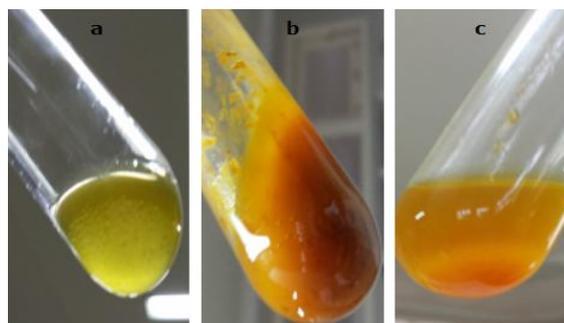
Tabel I. Hasil skrining fitokimia Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah

Pemeriksaan	Reagen	Hasil
Alkaloid	Mayer	+
	Dragendrof	+
	Wagner	+
Polifenol	FeCl ₃ 1%	-
Flavonoid	Mg, HCl	-
Saponin	Air, HCl	-
Terpenoid	Lieberman Burchard	+
Steroid	Lieberman Burchard	-
Tanin	FeCl ₃ 5%	-

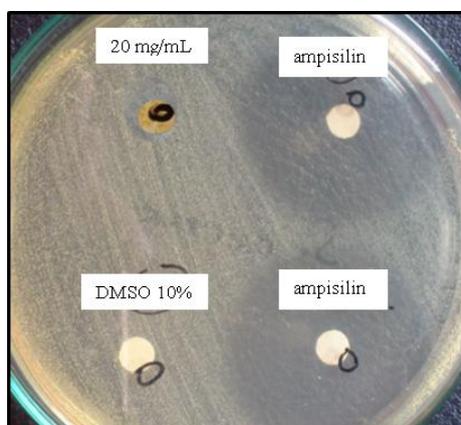
Keterangan: (+) positif : mengandung golongan senyawa; (-) negatif: tidak mengandung golongan senyawa.



Gambar 1. Skrining fitokimia pada terpenoid.



Gambar 2. Skrining fitokimia pada alkaloid (a). Pereaksi Mayer,(b). Pereaksi Wagner (c.) Pereaksi Dragendroff



Gambar 3. Zona Hambat pada *Staphylococcus aureus* ATCC 2593

Tabel II. Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 2593

Konsentrasi (mg/mL)	Zona Hambat (mm)			Mean ± S.E
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
20	14,50	10	9	11,17±1,69
40	12	11,40	15	12,80±1,11
Ampisilin	28,70	33,40	36	32,70±2,13
DMSO 10%	-	-	-	-

Keterangan: - = tidak terdapat zona hambat

Tabel III Hasil Uji Kruskal Wallis Zona Hambat Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 2593

Kelompok vs	Kelompok	p-value
DMSO	20	0,0369
	40	0,0369
	Ampisilin	0,0369
20	40	0.2752*
	Ampisilin	0.04953
40	Ampisilin	0.04953

Keterangan: * = p-value < 0,05 , data tidak berbeda signifikan.

aktivitas antibakteri. Rata-rata zona hambat fraksi n-heksan kulit buah naga merah dengan konsentrasi 40mg/mL adalah 12,80±1,69 mm dan konsentrasi 20mg/mL adalah 11,17±1,11 mm. Kontrol negatif DMSO terbukti tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan murni dari fraksi n-heksan kulit buah naga merah tanpa pengaruh dari pelarutnya. Kontrol positif ampisilin memiliki rata-rata zona hambat sebesar 32,70±2,13 mm terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksan kulit buah naga merah, DMSO dan ampisilin terdapat pada tabel II.

Rata-rata zona hambat dari kedua konsentrasi fraksi n-heksan kulit buah naga merah, maka zona hambat yang dihasilkan semakin besar. Zona hambat yang dihasilkan oleh konsentrasi 40mg/mL dinyatakan peka sebagai antibakteri karena Departemen Kesehatan menyebutkan bahwa mikroba dinyatakan peka terhadap antibakteri asal tanaman apabila mempunyai ukuran diameter daya hambatannya (daerah bening) 12-24 mm (Depkes RI, 1988). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki kepekaan terhadap antibakteri lebih baik dibandingkan Gram negatif karena adanya perbedaan struktur dinding sel. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks, berlapis tiga yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida dan lapisan

dalam berupa peptidoglikan. Sedangkan struktur dinding sel mikroba gram positif relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Zuhud dkk, 2001).

Zona hambat yang dihasilkan dianalisis menggunakan program R versi 3.0.3 dengan metode uji Kruskal Wallis. Nilai p-value hasil uji beda dengan Kruskal Wallis terdapat pada tabel III. Hasil uji beda menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kedua variasi konsentrasi fraksi n-heksan dengan kontrol negatif ini menyatakan bahwa sampel memiliki aktivitas antibakteri. Namun zona hambat yang dihasilkan oleh fraksi n-heksan kulit buah naga merah tidak sebaik kontrol positifnya yaitu ampisilin karena kedua konsentrasi berbeda signifikan dengan ampisilin. Konsentrasi 20mg/mL dan 40mg/mL tidak memiliki perbedaan yang signifikan sehingga dapat diasumsikan bahwa penggunaan konsentrasi 20mg/mL sudah dapat digunakan sebagai antibakteri karena memiliki aktivitas antibakteri yang sama dengan konsentrasi 40mg/mL.

Beberapa senyawa pada fraksi n-heksan yang diduga memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan hasil skrining fitokimia adalah alkaloid dan terpenoid. Terpenoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri,

membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri. Permeabilitas dinding sel ini akan mengganggu masuk keluarnya nutrisi dan senyawa lainnya, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999). Penelitian Luo (2014) menyatakan bahwa kulit buah naga merah memiliki kandungan β -amirin (15.87%) dan α -amirin (13.90%) yang merupakan golongan terpenoid. Senyawa α -amirin dan β -amirin yang diisolasi dari fraksi n-heksan *Moringa peregrina* terbukti memiliki aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* dengan persen inhibisi sebesar 30% (Tahany, 2010).

Selain dari terpenoid, aktivitas antibakteri fraksi n-heksan juga diakibatkan senyawa golongan alkaloid. Alkaloid memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara mengganggu penyusunan peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Lamonthe, 2009). Salat satu senyawa golongan alkaloid yang ada pada kulit buah naga merah adalah betasianin (Phebe, 2009). Ekstrak daun *Pterospermum acerifolium* yang memiliki kandungan senyawa betasianin terbukti memiliki aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 12 mm (Udin, 2014).

KESIMPULAN

Fraksi n-heksan kulit buah naga merah memiliki aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Rata-rata diameter zona hambat fraksi n-heksan kulit buah naga merah pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 20 dan 40 mg/mL yaitu $11,17 \pm 1,69$ dan $12,80 \pm 1,11$ mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada laboratorium bakteri jurusan analisis kesehatan Politeknik Kesehatan Kalimantan Barat karena telah mengizinkan kami untuk melakukan penelitian di laboratorium tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, I dan Aqil, F. 2007. In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ES β L-producing multidrug-resistant enteric bacteria. *Microbiological Research*.162(3):264-275.

Barbour, E.K., Al Sharif, M. Dan Sagherian, V.K. 2009. Screening of selected indigenous

plants of Lebanon for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*.93(1):1-7.

- Cowan, M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agent. *Clin Microbiol Rev*.12(4): 564-582.
- Departemen Kesehatan RI. 1988. *Inventaris Obat Indonesia* Jilid I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- Guarrera, P.M. 2005. Traditional phytotherapy in Central Italy (Marche, Abruzzo, and Latium). *Fitoterapia*.76(1):1-25.
- Indian Council of Medical Research. 2009. Detection of Antimicrobial Resistance in Common Gram Negative and Gram Positive Bacteria Encountered in Infectious diseases- An Update. *ICMR Bulletin*.39:1-3.
- Kaper, JB., Nataro, J.P dan Mobley, H.L. 2004. Pathogenic *Staphylococcus aureus*. *Nat. Rev. Microbiol*. 2:123-140
- Khalili, M.A., Norhayati, A.H., Rokiah, MY., Asmah, R., Muskinah, M.S. dan Manaf, A.A. Hypocholesterolemic Effect of Red Pitaya (*Hylocereus sp.*) on Hypercholesterolemia Induced Rats. *Int. Food Res. J.* 16:431-440.
- Kristianto, D. 2008. Buah Naga Pembudidayaan di Pot dan di Kebun. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Lamothe, R.G., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M.S. dan Malouin, F. 2009. Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*.10:3400-3419.
- Latif, A.Z., Haque, M. dan Shanmugasundaram, C. 2012. Clinical study of preventive potentials of consumption of Buah naga [Cactaceae] against paracetamol-induced hepatotoxicity as well as the other associated biological effects. *Asian J. Res. in Pharm. Sci.* 2(1):16-23.
- Luo, H., Cai, Y., Peng, Z., Liu, T dan Yang, S. 2014. Chemical Composition and In Vitro Evaluation of The Cytotoxic and Antioxidant Activities of Supercritical Carbon Dioxide Extracts of Pitaya (Dragon Fruit) Peel. *Chem. Central J*.8(1):2-7.
- Melliawati, Ruth. 2009. *Esherichia coli* dalam Kehidupan Manusia. *BioTrend*.4(1).
- Nurmahani, M.M., Osman, A., Abdul Hamid, A., Mohamad Ghazali, F. dan Pak Dek, M.S. Short Communication Antibacterial Property of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* Peel Extracts. *Int. Food Res. J.* 2012;19(1):77-84.
- Phebe, D., Chew, M. K., Suraini, A. A., Lai, O. M. dan Janna, O. A. 2009. Red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) fruit colour and betacyanin content depend on maturity. *Int. Food Res. J.*16:233-242.

- Tahany, M.A.A., Hegazy, A.K., Sayed, A.M., Kabiell, H.F., El-Afry, T. dan El-Komy, S.M. 2010. Study on combined antimicrobial activity of some biologically active constituents from wild *Moringa peregrina* Forssk. *J. Yeast Fungal Res.* 1(1):15-24.
- Uddin, G., Feroz, S., Ali, J. dan Rauf, A. 2014. Antioxidant, antimicrobial activity and phytochemical investigation of *Pterospermum acerifolium* (Leaf petiole). *J. Agricul. Res.* 3(3):058-062.
- Warisno, Dahana K. 2010. *Cara Pintar Bertanam Buah Naga di Kebun, Pekarangan dan dalam Pot.* PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wu, L., Hsu, H., Chen, Y., Chiu, C., Lin, Y. dan Ho, J.A. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *J. Food Chem.* 95(2):319-327.