

NASKAH PUBLIKASI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP
Salmonella typhi SECARA *IN VITRO***



RESTI PUTERI APRIYUSLIM

I11110058

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA**

2015

HALAMAN PENGESAHAN

NASKAH PUBLIKASI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP
Salmonella typhi SECARA *IN VITRO***

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

RESTI PUTERI APRIYUSLIM

NIM 111110058

DISETUJUI OLEH

PEMBIMBING PERTAMA

PEMBIMBING KEDUA

Hj. Sri Wahdaningsih, M.Sc., Apt

NIP. 19811101 200801 2 011

dr. lit Fitrianingrum

NIP. 19820722 200812 2 002

PENGUJI PERTAMA

PENGUJI KEDUA

dr. Agung Nugroho, M.Sc., Sp.PD

NIP. 19700405 200112 1 002

dr. Diana Natalia, M.Biomed

NIP. 19791224 200812 2 002

**MENGETAHUI,
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA**

dr. Bambang Sri Nugroho, Sp.PD

NIP. 19511218 197811 1 001

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP
Salmonella typhi SECARA IN VITRO**

Resti Puteri Apriyuslim¹; Sri Wahdaningsih²; lit Fitrianingrum³

Intisari

Latar Belakang: Demam tifoid merupakan infeksi sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi*. Masalah tifoid di Indonesia disebabkan oleh faktor kebersihan, resistensi antibiotik, dan belum adanya vaksin yang efektif. Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) telah digunakan secara turun temurun oleh sebagian masyarakat Indonesia untuk mengobati penyakit. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak terhadap *Salmonella typhi*, menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder, menentukan konsentrasi efektif, dan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun sirsak dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. **Metodologi:** Daun sirsak diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan skrining fitokimia. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*. Penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi yaitu 500 mg/mL, 600 mg/mL, 700 mg/mL, 800 mg/mL, 900 mg/mL, 1000 mg/mL. Kontrol positif menggunakan siprofloksasin 5 µg/disk sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. **Hasil:** Berdasarkan skrining fitokimia, ekstrak etanol daun sirsak mengandung senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Ekstrak etanol daun sirsak tidak dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun sirsak tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.

Kata Kunci: Antibakteri, Ekstrak etanol daun sirsak, *Salmonella typhi*

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 2) Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat
- 3) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat

**IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY DETERMINATION OF ETHANOL
EXTRACTS OF SOURSOP LEAVES (*Annona muricata* L.)
AGAINST *Salmonella typhi***

Resti Puteri Apriyuslim¹; Sri Wahdaningsih²; Iit Fitrianingrum³

Abstract

Background: Typhoid fever is a systemic infection caused by *Salmonella typhi*. In Indonesia, typhoid problem were caused by hygiene, antibiotic resistance, and ineffective vaccination factors. Soursop (*Annona muricata* L.) has been used by most of Indonesian people to treat many diseases. **Objective:** The aim of this study was to investigate the antibacterial activity of ethanol extracts of soursop leaves against *Salmonella typhi*, determined the secondary metabolite compounds, determined the effective concentration, and the minimum inhibitory concentration (MIC) of ethanol extracts of soursop leaves to inhibit the growth of *Salmonella typhi*. **Method:** Soursop leaves was extracted by maceration method using 70% ethanol. Chemical compounds of this extract were determined by phytochemical screening. Antibacterial activity test was determined by Kirby-Bauer Disc Diffusion method. This study used various concentration consist of 500 mg/mL, 600 mg/mL, 700 mg/mL, 800 mg/mL, 900 mg/mL, and 1000 mg/mL. Ciprofloxacin 5 µg/disk was used as positive control while negative control used DMSO 10%. **Result:** Based on phytochemical screening, ethanol extracts of soursop leaves contained alkaloids, phenols, flavonoids, saponins, tannins, and triterpenoids. Ethanol extracts of soursop leaves didn't showed antibacterial activity against the growth of *Salmonella typhi*. **Conclusion:** Ethanol extracts of soursop leaves didn't has antibacterial activity against *Salmonella typhi*.

Keywords: Antibacterial, Ethanol extracts of soursop leaves, *Salmonella typhi*

-
- 1) Medical School, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.
 - 2) Pharmacy Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan
 - 3) Medical School, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.

LATAR BELAKANG

Salmonella termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*, merupakan bakteri patogen bagi manusia dan hewan. Demam tifoid merupakan infeksi sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella enterica* serovar *typhi* (*Salmonella typhi*).¹ Menurut *World Health Organization* (WHO) diperkirakan terjadi 17 juta kasus demam tifoid per tahun dan 600 ribu diantaranya berakhir dengan kematian. Sekitar 70% dari seluruh kasus kematian itu menimpa penderita demam tifoid di Asia. *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) Indonesia melaporkan prevalensi demam tifoid mencapai 358-810/100.000 populasi pada tahun 2007 dengan 64% penyakit ditemukan pada usia 3-19 tahun dan angka mortalitasnya bervariasi antara 3,1-10,4% pada pasien rawat inap.² Berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2011, demam tifoid atau paratifoid menempati urutan ke-3 dari 10 penyakit terbanyak pasien rawat inap di rumah sakit tahun 2010 yaitu sebanyak 41.081 kasus, yang meninggal 274 orang dengan *Case Fatality Rate* sebesar 0,67%.³ Prevalensi demam tifoid klinis di Kalimantan Barat yaitu 1,48%.⁴ Masalah tifoid di Indonesia disebabkan antara lain karena faktor kebersihan, maupun masalah klinis seperti koinfeksi dengan penyakit lain, resistensi antibiotika, serta belum adanya vaksin yang efektif.⁵ Masalah terkait efek samping obat demam tifoid juga telah dilaporkan.^{6,7}

Secara turun temurun sirsak telah digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia untuk mengobati penyakit. Penggunaan di masyarakat secara turun temurun dengan cara dimakan secara langsung atau diminum air rebusannya, baik daun yang masih segar maupun yang sudah dikeringkan terlebih dahulu.⁸

Daun sirsak mengandung saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid, yang mana senyawa ini dapat berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan infusa daun sirsak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan

Escherichia coli ATCC 35218.⁹ Sari daun sirsak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.¹⁰ Perasan daun sirsak mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.¹¹ Ekstrak air dan metanol daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Bacillus subtilis*.¹²

Aktivitas antibakteri yang terdapat pada daun sirsak menjadi dasar dilakukannya penelitian untuk mencari aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Salmonella typhi* secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Etanol umumnya baik untuk melarutkan senyawa aktif yang diduga berkhasiat sebagai antimikroba seperti alkaloid, flavanoid, tanin, dan saponin.¹³ Penggunaan etanol 70% dikarenakan etanol 70% polaritasnya sangat tinggi dibanding dengan etanol murni. Penambahan air 30% dapat meningkatkan polaritas etanol sehingga lebih mudah berpenetrasi ke dalam membran sel untuk menyari bahan ekstraseluler dari kandungan tanaman.¹⁴

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Maret 2014 sampai Februari 2015. Sampel daun sirsak diperoleh dari perkebunan daerah Rasau Jaya, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Teknologi Kayu Fakultas Kehutanan, Universitas Tanjungpura Pontianak. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat-alat gelas, oven, blender, bejana maserasi, lemari pendingin, *vacuum rotary evaporator*, *water bath*, desikator, timbangan analitik, inkubator, *Biological Safety*

Cabinet (BSC), *autoclave*, *Hot Plate*, shaker, vortex, spektrofotometri, prevorator, jarum ose, pembakar Bunsen, mikroskop, penjepit dan rak tabung reaksi, pinset, jangka sorong digital, tip, dan mikropipet.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun sirsak, etanol 70%, DMSO 10%, siprofloksasin 5 µg/disk, alumunium foil, kertas saring, kertas cakram steril, kertas sampul coklat, kapas, plastik tahan panas, antiseptik, spiritus, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, pereaksi Molisch, kalium iodida (KI), seng (Zn), magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, besi (III) klorida (FeCl₃) 1%, gelatin 2%, asam asetat (CH₃COOH) glasial, H₂SO₄ pekat, amoniak (NH₃), kloroform (CH₃Cl), karbol kristal ungu, etanol 96%, iodin, safranin, akuades, media *Nutrient Agar* (NA), media *Mueller-Hinton agar* (MHA), media agar *Salmonella Shigella* (SS), media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), media *Simmons Citrate Agar* (SCA), media MIO (*Motility-Indole-Ornithine*), media Urease, media Glukosa Of (*Hugh Leifson*), indikator glukosa, maltosa, laktosa, standar Mc. Farland no. 0,5, dan larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%.

Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur murni *Salmonella typhi* yang diperoleh dari koleksi Balai Laboratorium Kesehatan (BLK), Yogyakarta.

Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang digunakan yaitu 500 mg/mL, 600 mg/mL, 700 mg/mL, 800 mg/mL, 900 mg/mL, and 1000 mg/mL. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik siprofloksasin 5 µg/disk dan kontrol negatif DMSO 10%.

Prosedur Kerja

Pengolahan Sampel

Daun sirsak yang telah dikumpulkan, disortasi basah, kemudian dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih, dirajang, dikeringanginkan kemudian di oven pada suhu 50° C selama 24 jam. Selanjutnya simplisia disortasi kering, dihaluskan menggunakan *blender* hingga diperoleh serbuk simplisia daun sirsak, dilakukan pengepakan dan penyimpanan.

Ekstraksi

Sebanyak 500 gram serbuk simplisia daun sirsak dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sampai serbuk simplisia terendam semua. Kemudian ditutup dan didiamkan sambil sesekali diaduk. Proses maserasi dilakukan dengan mengganti pelarut tiap 1x24 jam selama tiga hari. Hasil maserasi dikumpulkan dan disaring. Filtratnya kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol daun sirsak. Pengentalan ekstrak dilanjutkan menggunakan *water bath*. Ekstrak kemudian disimpan dalam wadah kaca yang dilapisi aluminium foil.

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak sampel masing-masing sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur dengan 5 ml kloroform dan 5 ml amoniak kemudian dipanaskan, dikocok dan disaring. Ditambahkan 5 tetes asam sulfat pada masing-masing filtrat, kemudian kocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendroff. Terbentuknya endapan putih pada pereaksi Mayer, endapan coklat pada pereaksi Wagner, dan endapan orange atau jingga pada pereaksi Dragendroff menunjukkan adanya alkaloid.^{15,16,17}

Pemeriksaan Fenol

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan beberapa tetes air panas dan beberapa tetes pereaksi FeCl_3 1%. Jika warna larutan berubah menjadi warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat menunjukkan adanya senyawa fenol.¹⁶

Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak Sampel dicampur dengan 5 ml etanol, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan 3 tetes HCl pada masing-masing filtrat. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya favonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron.^{16,18}

Pemeriksaan Tanin

Ekstrak sampel masing-masing sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1 dan 2. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1% pada tabung 1. Hasil positif ditandai dengan dengan terbentuknya warna biru kehitaman untuk golongan tanin hidrolisis atau hijau kehitaman untuk golongan tanin kondensasi. Sampel pada tabung 2 ditambahkan beberapa tetes larutan gelatin 2%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih.^{17,18,19,20}

Pemeriksaan Saponin

Larutan ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL akuades dan dikocok kuat selama 10 menit. Hasil dinyatakan positif apabila buih yang terbentuk stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCL 2N, busa tidak hilang.^{18,21}

Pemeriksaan Steroida dan Triterpenoid (Uji Liebermann-Burchard)

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 1 mL CH_3COOH glasial dan 1 mL larutan H_2SO_4

pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna hijau-biru untuk golongan steroid dan cincin merah-coklat untuk golongan triterpenoid.^{16,22}

Pemeriksaan Glikosida

Ekstrak sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes *Molisch*, kemudian ditambahkan dengan hati-hati 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung, terbentuknya cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya gula, dengan demikian menunjukkan adanya glikosida.¹⁸

Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstak Etanol Daun Sirsak

Ekstrak etanol daun sirsak dibuat dengan variasi konsentrasi 500 mg/mL, 600 mg/mL, 700 mg/mL, 800 mg/mL, 900 mg/mL, dan 1000 mg/mL. Konsentrasi dibuat dengan membuat larutan stok terlebih dahulu. Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 1000 mg/mL yaitu dengan melarutkan 25 gram ekstrak ke dalam 25 mL DMSO 10%. Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak dihitung dengan rumus berikut:¹¹

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan:

V_1 =Volume ekstrak etanol daun sirsak yang akan diambil untuk diencerkan.

V_2 =Volume ekstrak etanol daun sirsak yang akan dibuat.

N_1 =Konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang akan diencerkan.

N_2 =Konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang akan dibuat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Serbuk Simplisia Daun Sirsak

Hasil pemekatan diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kehitaman dengan bau yang khas sebanyak 128,649 gram. Hasil pengujian susut pengeringan diperoleh kadar air rata-rata ekstrak etanol daun sirsak

sebesar 25,872% yang diperoleh dari tiga kali pengulangan. Rendemen ekstrak kental daun sirsak yang didapat adalah 25,7298 %.

Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirsak

No	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	Mayer	-	Tidak terbentuk endapan putih
		Dragendroff	+	Terbentuk endapan orange
		Wagner	+	Terbentuk endapan cokelat
2.	Fenol	Air panas, FeCl ₃ 1%	+	Terbentuk warna hijau kehitaman
3.	Flavonoid	HCl, Mg	+	Terbentuk warna kuning jingga
4.	Saponin	Akuades HCl 2N	+	Terbentuk busa yang stabil setinggi ± 2 cm
5.	Tanin	FeCl ₃ 1%	+	Terbentuk warna hijau kehitaman
		Gelatin 2%	+	Terbentuk endapan
6.	Steroid/ Triterpenoid	CH ₃ COOH glasial, H ₂ SO ₄ pekat	+	Terbentuk cincin berwarna merah (Triterpenoid)
7.	Glikosida	Akuades, Molish, H ₂ SO ₄ pekat	-	Tidak terbentuk cincin berwarna ungu

Sumber : Data Primer, 2014

Keterangan: + = Positif, ada kandungan senyawa

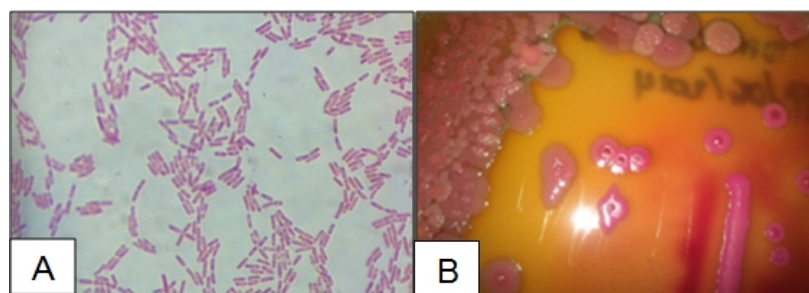
- = Negatif, tidak ada kandungan senyawa

Identifikasi Bakteri Uji

Tabel 2. Hasil Identifikasi Bakteri Uji

No	Metode Uji	Hasil	Karakterisasi
1.	Pewarnaan Gram	Bakteri berbentuk batang dan berwarna merah	Bakteri Gram negatif
2.	Kultur pada media SSA	Koloni bakteri jernih, kecil, berkeping dan berbentuk bulat serta pada beberapa bagian koloni tampak bulatan hitam di tengah koloni	Bakteri golongan <i>Salmonella</i>
3.	Uji TSIA	Lereng alkalis (merah), dasar asam (kuning) atau K/A, H ₂ S(+), Gas(-)	<i>Salmonella typhi</i>
4.	Uji gula-gula	Fermentasi Glukosa (+) Fermentasi Maltosa (+) Fermentasi Laktosa (-)	<i>Salmonella typhi</i>
5.	Uji MIO	Motil, aktivitas Indol negatif, dan tidak dapat mendekarboksilasi Ornitin	<i>Salmonella typhi</i>
6.	Uji SCA	Aktivitas <i>Simmons citrate</i> negatif	<i>Salmonella typhi</i>
7.	Uji urease	Aktivitas urease negatif	<i>Salmonella typhi</i>
8.	Uji fermentatif-oksidatif	Fermentatif	<i>Salmonella typhi</i>

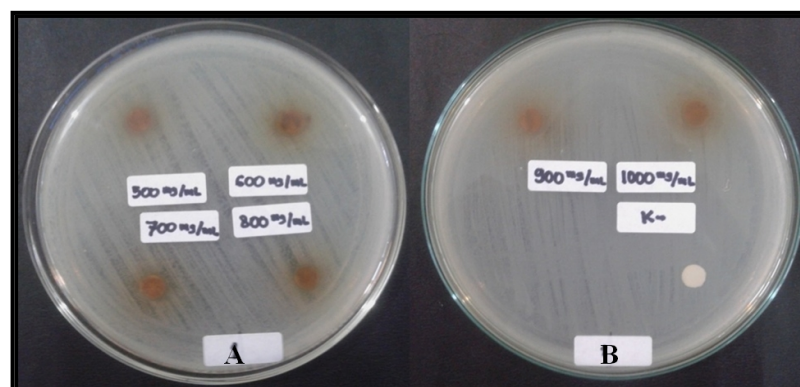
Sumber : Data Primer, 2014



Gambar 1. (A). Hasil pewarnaan Gram *Salmonella typhi* (Perbesaran 100x), (B). Hasil identifikasi *Salmonella typhi* pada media SSA (Data Primer, 2014)

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode *Disc Diffusion Kirby-Bauer*

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan kontrol negatif (DMSO 10%), kontrol positif (siprofloksasin 5 µg/disk), dan variasi konsentrasi larutan uji. Kontrol positif siprofloksasin memberikan hasil daerah hambat sebesar 33,47 mm. Hal ini menunjukkan bahwa siprofloksasin masih sensitif terhadap *Salmonella typhi*. Hasil pengukuran diinterpretasikan berdasarkan tabel interpretasi zona hambat antibiotik. Siprofloksasin dengan potensi 5 µg/disk dikatakan resisten apabila zona hambat yang dihasilkan ≤ 20 mm; intermediet apabila 21-30 mm; dan sensitif apabila ≥ 31 mm.²³ DMSO 10% sebagai kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO merupakan pelarut ekstrak yang baik karena dapat melarutkan ekstrak tanpa memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan bakteri uji. Hasil pengamatan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak dengan variasi konsentrasi 500 mg/mL, 600 mg/mL, 700 mg/mL, 800 mg/mL, 900 mg/mL, dan 1000 mg/mL terhadap *Salmonella typhi* setelah diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam dengan 3 kali pengulangan menunjukkan tidak adanya zona hambat atau zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Berikut gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri dari variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak:



Gambar 2. Hasil pengamatan 1×24 jam ekstrak etanol daun sirsak dengan konsentrasi (A). 500 mg/mL, 600 mg/mL, 700 mg/mL, 800 mg/mL; (B). 900 mg/mL, 1000 mg/mL, dan kontrol negatif DMSO 10% (Data Primer, 2014)

Tabel 3. Hasil Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak

No	Konsentrasi (mg/mL)	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)
		Pengulangan			
		I	II	III	
1.	500	0	0	0	0
2.	600	0	0	0	0
3.	700	0	0	0	0
4.	800	0	0	0	0
5.	900	0	0	0	0
6.	1000	0	0	0	0

Sumber : Data Primer, 2014

Keterangan : 0 = tidak ada zona hambat

Ekstrak etanol daun sirsak tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi konsentrasi ekstrak, kadar senyawa metabolit sekunder terlarut, karakteristik dan sifat virulensi bakteri yang dihambat. Pelarut etanol yang digunakan dalam proses ekstraksi merupakan pelarut umum yang bersifat semipolar, dapat melarutkan senyawa polar maupun senyawa nonpolar. Hasil skrining fitokimia didapatkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, fenol, flavanoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Konsentrasi senyawa antibakteri dapat mempengaruhi hasil pengujian aktivitas antibakteri, di mana semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri maka kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji juga semakin besar.^{24,25} Metode yang digunakan untuk menguji kandungan senyawa metabolit sekunder pada penelitian ini bersifat kualitatif, artinya hanya mendeteksi ada atau tidaknya kandungan senyawa metabolit sekunder, sehingga kadar masing-masing senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sirsak tidak dapat diketahui. Perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder juga dapat terjadi dikarenakan

perbedaan lingkungan tempat tumbuh tanaman, genetik, metode budidaya, waktu pengumpulan, serta pengolahan pasca panen. Senyawa metabolit sekunder dalam suatu tumbuhan dapat bervariasi karena kondisi lingkungannya, jenis varietas, kondisi fisiologis (tua atau muda) dan juga sifat kimianya.

Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak dinding sel melalui komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri.^{26,27} *Salmonella typhi* merupakan bakteri Gram negatif, memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang lebih tipis, namun untuk dapat merusak lapisan peptidoglikan tersebut, senyawa alkaloid harus mampu menembus membran luar bakteri. Membran luar bakteri *Salmonella typhi* mengandung lipopolisakarida yang terdiri atas lipid A yang impermeabel terhadap senyawa eksogen. More *et al.* (2012) melaporkan bahwa fraksi alkaloid terisolasi tidak dapat melawan bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan karena membran luar bakteri Gram negatif memiliki barrier penetrasi berbagai molekul antibakteri dan ruang periplasma mengandung enzim yang mampu mendegradasi molekul eksogen.²⁸

Flavonoid merupakan senyawa fenol, turunan fenol bekerja dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri.⁹ Flavonoid menginduksi kebocoran membran, membuat membran lebih permeabel sehingga terjadi lisis dan gangguan keseimbangan elektrokimia yang penting bagi kehidupan sel.^{29,30} Toksisitas senyawa fenol terhadap bakteri tergantung pada jumlah gugus hidroksil dan konsentrasi yang diberikan. Pada kadar yang tinggi, fenol mampu menyebabkan koagulasi protein dan melisiskan sel, sedangkan pada kadar rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian sehingga efek antibakterinya menjadi lemah.^{9,24} Flavonoid memiliki aktivitas penghambatan yang lebih baik terhadap bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif dikarenakan senyawa flavonoid lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram positif dengan lapisan peptidoglikan

yang bersifat polar dibandingkan dinding sel bakteri Gram negatif dengan kandungan lipid tinggi yang bersifat nonpolar.^{31,32} Diduga flavonoid dan fenol yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak tidak adekuat dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* yang merupakan bakteri Gram negatif dan konsentrasi fenol yang terkandung dalam ekstrak belum mampu mengganggu stabilitas membran sel *Salmonella typhi* sehingga tidak dapat menghambat bakteri secara optimal.

Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi materi genetik.³³ Semakin tinggi konsentrasi tanin yang diberikan, maka semakin baik aktivitas antibakterinya. Tanin dengan berat molekul rendah memiliki aktivitas lebih baik daripada tanin dengan berat molekul yang lebih besar.^{34,35} Tanin diklasifikasikan ke dalam tanin kondensasi dan tanin hidrolisis. Hasil pengujian menunjukkan tanin yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirsak merupakan tanin kondensasi. Lim *et al.* (2006) melaporkan bahwa hanya tanin hidrolisis yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Tanin hidrolisis ditemukan memiliki aktivitas antibakteri jauh lebih baik dibandingkan tanin kondensasi atau campuran dari keduanya.³⁶

Saponin meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Mekanisme ini tergantung pada konsentrasi saponin yang diberikan dan jumlah gugus gula pada aglikon. Saponin dengan konsentrasi tinggi mampu melisiskan membran sel, sementara konsentrasi rendah hanya mampu berinteraksi dengan membran sel tetapi tidak sampai melisiskan sel. Jenis rantai aglikon, jumlah, posisi dan struktur kimia dari gugus gulanya merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri saponin. Semakin banyak gugus gulanya, maka semakin lemah efek antibakterinya.^{33,37}

Terpenoid bersifat lipofilik memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Senyawa ini akan bereaksi dengan sisi

aktif membran, melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya.^{38,39} Sejauh ini senyawa terpenoid yang paling aktif adalah golongan monoterpenoid yaitu *carvacrol* dan *thymol*.⁴⁰ Aktivitas antibakteri terpenoid juga tergantung pada jumlah senyawa yang dihasilkan. Pada konsentrasi rendah, terpenoid hanya mempengaruhi enzim yang terlibat dalam produksi energi sedangkan pada konsentrasi tinggi terpenoid dapat melisiskan membran.³⁹

Ketahanan suatu bakteri terhadap senyawa antibakteri berkaitan erat dengan struktur dinding selnya. Senyawa aktif yang berasal dari tanaman sering menunjukkan aktivitas yang lebih baik terhadap bakteri Gram positif tetapi tidak terhadap bakteri Gram negatif.³⁷ Bakteri Gram negatif memiliki *barrier* permeabilitas efektif yang kemungkinan besar menyebabkan aktivitas antibakteri senyawa aktif dari ekstrak etanol daun sirsak menjadi tidak efektif. *Salmonella typhi* merupakan bakteri Gram negatif. Lapisan membran luar dinding sel bakteri *Salmonella typhi* mengandung lipoprotein, fosfolipid, dan lipopolisakarida. Lapisan dalam adalah berupa lapisan peptidoglikan yang tipis dengan kandungan lipid tinggi (11-22%). Lipid ini bersifat impermeabel dan berfungsi mencegah masuknya bahan kimia dari luar.²⁹ Adanya sistem seleksi terhadap zat-zat asing pada lapisan lipopolisakarida menyebabkan senyawa antibakteri sulit masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.

Permeabilitas membran luar dinding sel bakteri Gram negatif ditentukan oleh adanya protein tertentu yang disebut porin. Porin memungkinkan difusi pasif komponen hidrofilik dengan berat molekul rendah seperti gula, asam amino, dan beberapa jenis ion, namun impermeabel terhadap molekul berukuran besar. Molekul antibakteri berukuran besar relatif lambat saat menembus membran luar yang menyebabkan bakteri Gram negatif relatif lebih resisten terhadap senyawa antibakteri.^{29,41}

Faktor virulensi bakteri juga dapat mempengaruhi hasil pengujian aktivitas antibakteri. Faktor virulensi bakteri menggambarkan kekuatan suatu strain

dalam pertahanan terhadap pajanan zat antibakteri. Struktur dan faktor virulensi bakteri *Salmonella typhi* meliputi *siderophore*, enterotoksin, endotoksin di lapis LPS, *Antiphagochytic protein induced by oxyR*, antigen O, antigen H, antigen Vi, flagella, dan fimbriae.²⁵ Berdasarkan hasil klasifikasi oleh Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta, bakteri *Salmonella typhi* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki antigen H yang terdapat pada flagella dan berfungsi sebagai antifagositik. Flagel yang dimiliki oleh bakteri *Salmonella typhi* memungkinkan bakteri memiliki motilitas sehingga bakteri dapat menyebar dan memperbanyak diri dalam lingkungannya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak etanol daun sirsak tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak dengan menggunakan pelarut selain etanol 70% seperti metanol, *n*-heksana, etil asetat, dan kloroform. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan bagian lain dari tanaman sirsak seperti kulit buah, kulit batang, dan biji sirsak. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap uji efektifitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Radji M. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta: EGC; 2011.
2. Juwita S, Hartoyo E, Budiarti LY. Pola Sensitivitas *In Vitro Salmonella typhi* Terhadap Antibiotik Kloramfenikol, Amoksisilin, dan Kotrimoksazol. Berkala Kedokteran. 2013;9(1):21-29.
3. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Profil Data Kesehatan Indonesia Tahun 2011. Jakarta. Kemenkes RI. 2012.
4. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar 2007. Jakarta. Depkes RI. 2008.
5. Raflizal dan Herawati MH. Hubungan Faktor Determinan dengan Kejadian Tifoid di Pulau Jawa. Jurnal Ekologi Kesehatan. 2010;9(4):1357-1365.
6. Musnelina L, Afdhal AF, Gani A, Andayani P. Analisis Efektivitas Biaya Pengobatan Demam Tifoid Anak Menggunakan Kloramfenikol

- dan Seftriakson di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. MAKARA. 2004;8(2):56-64.
7. Adisasmito AW. Penggunaan Antibiotik pada Terapi Demam Tifoid Anak di RSAB Harapan Kita. Sari Pediatri. 2006;8(3):174-180.
 8. Wicaksono A. Kalahkan Kanker dengan Sirsak. Yogyakarta: Citra Media Mandiri; 2011.
 9. Sari YD, Djannah SN, Nurani LH. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro* Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. KESMAS. 2010;4(3):144-239.
 10. Widiana R, Indriati G, Andika I. Daya Hambat Sari Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. Sumatera Barat. STKIP PGRI. 2011. (Skripsi).
 11. Permatasari GAAA, Besung INK, Mahatmi H. Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Indonesia Medicus Veterinus. 2013;2(2):162-9.
 12. Pathak P, Saraswathy VA, Savai J. In Vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of The Leaves of *Annona muricata*. International Journal of Pharma Research and Development. 2010;2:1-6.
 13. Purwatresna E. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak Secara *In Vitro* Melalui Inhibisi Enzim α -Glukosidase. Bogor. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. 2012. (Skripsi).
 14. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical Screening and Extraction. Journal of International Pharmaceutical Sciencia. 2011;1(1):98-106.
 15. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi 3. Jakarta. Depkes RI. 1979.
 16. Harborne JB. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan ke-1. Padmawinata K, Soediro I (alih bahasa). Bandung: Penerbit ITB; 1987.
 17. Sangi M, Runtuwene MRJ, Simbala HEI, Makang VMA. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. Chem. Prog. 2008;1(1):47-53.
 18. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi 4. Jakarta. Depkes RI. 1995.
 19. Marliana SD, Suryanti V, Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi. 2005;3(1):26-31.
 20. Sriwahyuni I. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach). Malang. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. 2010. (Skripsi).

21. Gupta C, Garg A, Gupta S. Antimicrobial and Phytochemical Studies of Fresh Ripe Pulp and Dried Unripe Pulp of *Mangifera indica* (Amchur). Middle-East Journal of Scientific Research. 2010;5(2):75-80.
22. Indah DN. Isolasi dan Uji Aktivitas Pestisida Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Diklorometan Daun Tumbuhan *Toona sinensis*. Bandung. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. 2006. (Skripsi).
23. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. Wayne PA. CLSI. 2014.
24. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews. 1999;12(4):564-582.
25. Peleazar MJ dan Chan ECS. Dasar-Dasar Mikrobiologi (I). Jakarta: UI Press; 2006.
26. Robinson T. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Padmawinata K (alih bahasa). Bandung: Penerbit ITB; 1995.
27. Rachmaeati JF, Dewa AC, Bunga N, Titis N, Endarwati TB. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Jurnal Kedokteran Indonesia. 2009;12(1):6-12.
28. More S, Maldar NN, Bhamra P, Sharon M. Antimicrobial Activity of Naphthyl Iso-Quinoline Alkaloids of *Ancistrocladus heyneanus*: I Extracted from Leaves. Pelagia Research Library. 2012;3(5):2760-2765.
29. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 23. Elferia RN, Ramadhani D, Karolina S, Indriyani F, Rianti SSP, Yulia P.(ed). Jakarta: EGC; 2008.
30. Cushnie TPT dan Andrew JL. Antimicrobial Activity of Flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents. 2005;26:343-356.
31. Puspitasari GS, Murwani, Herawati. Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) M.2306.T *In Vitro*. Jurnal Veterinari Medika. 2012;2(4):1-8.
32. Dewi FK. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Surakarta. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. 2010. (Skripsi).
33. Juliantina F, Citra DW, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo ET. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. JKKI. 2009;1-10.
34. Al Ani RT, Mohammed N, Alhameed A, Mohammed S. Antibacterial Activity of Tannins Extracted from Some Medicinal Plants *In Vitro*. Journal Department of Biochemistry. 2008;6(1):1-7.
35. Costabile A, Sanghi S, Pelaez SM, Harvey IM, Gibson GR, Rastal RA. Inhibition of *Salmonella typhimurium* by Tannins *In Vitro*. Journal of Food, Agriculture & Environment. 2011;9(1):119-124.

36. Lim SH, Darah I, Jain K. Antimicrobial Activities of Tannins Extracted from *Rhizophora Apiculata* Barks. *Journal of Tropical Forest Science*. 2006;18(1):59-65.
37. Hassan SM. Antimicrobial Activities of Saponin-Rich Guar Meal Extract. *Texas. Poultry Science*. 2008. (Disertasi).
38. Mayanti T, Julaeha E, Putri Y. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang *Lansium domesticum* Corr. Cv Kokossan. Bandung. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. 2011. (Pustaka Ilmiah).
39. Nazzaro F, Fratianni F, Martino LD, Coppola R, Feo VD. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. 2013;6:1451-1474.
40. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential Oils in Food Preservation: Modeofaction, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components. *Frontiers in Microbiology*. 2012;3(12):1-24.
41. Nurmillah OY. Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang dan Daun Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). Bogor. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. 2009. (Skripsi).

LAMPIRAN

Surat Lolos Kaji Etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak 78124
Telp (0561) 765342, 583865, 732500 Fax (0561) 765342, 583865, 732500 Kotak Pos 1049
e-mail : kedokteran@untan.ac.id website : http://www.fk.untan.ac.id

No. : 1256 /UN22.9/DT/2014 26 Maret 2014
Hal : Keterangan Lolos Kaji Etik

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL – CLEARANCE

Divisi Kaji Etik Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul :

Ethical Clearance Division of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled:

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*

Peneliti utama : Resti Puteri Apriyuslim
Principal researcher I11110058
Nama institusi : Program Studi Pendidikan Dokter
Institution Fakultas Kedokteran Untan

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the mentioned proposal.

Mengetahui,
Kepala
Chief

dr. Heru Fajar Trianto, M.Biomed
NIP. 19841013 200912 1 005

Pengkaji
Reviewer

dr. Didiék Pangestu Hadi
NIP. 1982 1224 2009 12 1003

**Ethical-clearance* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan