

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SRIKAYA HIJAU DAN MERAH (*Annona squamosa* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

*Comparison of Antibacterial (*Annona squamosa* L.) Activity Leaf Extract Green and Red Against Bacteria *Staphylococcus aureus**

DEWI VENDA ERLINA^{1*}, ROSA JUWITA HESTURINI¹, MEYLISA NURVITA¹

¹Fakultas Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

*Corresponding authors : dewi.vendaffua07@gmail.com

ABSTRACT

Annona squamosa L. leaves have several varieties, namely green and red (*Annona squamosa* L.) varieties. Research on the leaves of (*Annona squamosa* L.) that many have a wide range of activity caused by the compound therein, including flavonoids. This study aimed to compare the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* with the extraction maceration, using ethanol 70% with a ratio of 1:5 for 4 days with occasional shaking and twice remaceration with a concentration extract 75%, 50% dan 25%. In this study using diffusion wells with positive control antibiotic levofloksacin and negative control that is distilled water each pipette 5mL and inserted in a hole wells with media NA (Nutrient Agar), and then incubated 37°C for 24 hours and then do the measurement of inhibit zone. This research is expected to be able to compare the antibacterial activity of the flavonoids of green and red leaves (*Annona squamosa* L.). *Anova* test result showed a significant difference between the treatment group, which is characterized by the Sig. < 0.05. *Post Hoc* test results showed significant differences in all concentrations characterized by Sig values. > 0.05. Green and red (*Annona squamosa* L.) leaves have compound activity as antibacterial. 75% concentration has the optimum activity in this study because it has activity which is not significantly different with positive control.

Keywords: Antibacterial, Extract Sugar Apple (*Annona squamosa* L.), Flavonoids, Maceration, *Staphylococcus aureus*, Wells are

PENDAHULUAN

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami kekebalan terhadap antibiotik jenis metisilin. Prevalensi kejadian infeksi MRSA semakin meningkat. Prevalensi infeksi MRSA di Asia mencapai 70% sedangkan di Indonesia prevalensinya mencapai 23,5% pada tahun 2006. MRSA mengalami resistensi karena perubahan genetik yang disebabkan oleh paparan terapi antibiotik yang tidak rasional. Transmisi bakteri berpindah dari satu pasien ke pasien lainnya melalui alat medis yang tidak diperhatikan sterilitasnya. Transmisinya dapat pula melalui udara maupun fasilitas ruangan, misalnya selimut atau kain tempat tidur (Nurkusuma, 2009).

Antibakteri adalah senyawa - senyawa kimia alami dengan kadar rendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu bahan antibakteri adalah antibiotik. Antibiotik adalah golongan senyawa, yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia dalam organisme khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri (Setyaningsih 2004 dalam Majid 2009).

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. Bahan alam tersebut dapat dimanfaatkan pada berbagai bidang, khususnya dalam pengobatan. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat adalah srikaya (*Annona squamosa L.*). Beberapa penelitian melaporkan bahwa daun srikaya memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antimikroba dan sitotoksik terhadap sel hela. Kandungan senyawa yang terdapat di dalam daun srikaya meliputi alkaloid, tanin, sterol, saponin, triterpenoid, glikosida, dan juga flavonoid (Djajanegara dan Wahyudi, 2009).

Keistimewaan tanaman srikaya (*Annona squamosa L.*) khususnya pada bidang Mikrobiologi ialah terletak pada daun mengungkapkan terdapat 3 komposisi kimia pada daun srikaya yang berfungsi sebagai antibakteria yaitu flavonoid, terpenoid, dan alkaloid. Ketiga zat kimia tersebut bekerja menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu fungsi mikroorganisme bakteri. Secara umum semua bagian pada tanaman srikaya dapat dimanfaatkan (Manoi dan Balitro, 2009).

Senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan umumnya dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, kumarin, dll. Seperti metabolit sekunder lainnya, flavonoid mempunyai aktifitas beragam, diantaranya mempunyai efek sebagai antivirus, antikanker, antiinflamasi, antioksidan, antihepatotoksik, dan antidiabetes (Morina, 2005). Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh, seringkali berbentuk senyawa campuran dan jarang sekali dijumpai senyawa tunggal (Wandasari, 2007)

Tumbuhan srikaya (*Annona squamosa L.*) yang memiliki banyak kandungan flavonoid dan senyawa metabolit lainnya akan dimanfaatkan untuk menghambat aktivitas bakteri, salah satu bakteri yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* yang banyak menimbulkan infeksi. Infeksi *Staphylococcus aureus* pada manusia dapat ditularkan secara langsung melalui selaput mukosa yang bertemu dengan kulit. Bakteri ini dapat menyebabkan endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis, ataupun infeksi paru-paru (Jawetz *et al.*, 2005).

Pengobatan alternatif yang banyak diminati oleh masyarakat sekarang ini yaitu obat-obat herbal dengan kata lain kembali ke alam (*back to nature*). Bahan-bahan alam yang digunakan mampu memberikan efek terapi pada penderita infeksi. Srikaya (*Annona squamosa L.*) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang terbukti memiliki berbagai khasiat, diantaranya untuk mengobati batuk, demam, rematik, diare dan disentri (Sabella, 2009).

Penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya pada perasan daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Serta ada kecenderungan semakin tinggi konsentrasi perasan daun srikaya maka zona hambat yang terbentuk semakin besar. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap antibakteri dandapatkah memberikan efek pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan hasil resisten, intermediet atau sensitif.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri pada 1 Oktober 2017. Bahan digunakan dalam penelitian adalah daun srikaya (*Annona squamosa L.*), etanol 70% sebagai pelarut, aquadest, media NA, dan bakteri patogen (*Staphylococcus aureus*). Peralatan yang digunakan adalah erlenmeyer, gelas ukur (pyrex), neraca analitik, corong *buchnerv*, cawan porselen, oven, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, desikator, cawan petri, mikropipet, *waterbath*, autoklaf dan inkubator.

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan digunakan sebagai bahan uji.

2. Pembuatan Simplisia Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)

Daun srikaya hijau diperoleh dari desa Semen-Kediri dan daun srikaya merah diperoleh dari desa desa Tangkulan kecamatan Kayen Kidul kabupaten Kediri. Daun srikaya dicuci bersih dan ditiriskan, kemudian ditempatkan pada wadah yang bersih dan dipotong-potong tipis, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu sekitar 27-30°C, kemudian dihaluskan dengan cara diblender hingga diperoleh serbuk kering atau simplisia (Rivai, 2010).

3. Pembuatan Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)

Ekstrak daun srikaya dibuat dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia sebanyak 100 gram ke dalam pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml pada bejana, kemudian diaduk. Bejana ditutup menggunakan *aluminium foil* dan didiamkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk, setelah 3 hari, ekstrak disaring menggunakan *corong buchner* sehingga menghasilkan filtrat dan ampas pertama ekstrak daun srikaya. Ampas yang ada ditambah larutan etanol 70% sebanyak 250 ml dan ditutup dengan *aluminium foil*, kemudian dibiarkan selama 1 hari sambil sesekali diaduk, setelah 1 hari, ekstrak disaring menggunakan *corong buchner* sehingga menghasilkan filtrat dan ampas kedua ekstrak daun srikaya. Filtrat pertama dan kedua dicampur menjadi satu, lalu dipekatkan menggunakan *water bath*, sehingga diperoleh ekstrak kental daun srikaya. Ekstrak kental yang dihasilkan dibiarkan pada suhu ruangan hingga seluruh pelarut etanol menguap, setelah itu ekstrak ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup (Depkes RI, 2000).

4. Identifikasi Kandungan Flavonoid pada Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)

Skrining fitokimia dilakukan dengan menambahkan sampel dengan 2-4 tetes HCl pekat dan serbuk Mg, perubahan warna diamati dari kuning tua menjadi oranye, kemudian campuran tersebut ditambahkan dengan HCl pekat dan dipanaskan selama 15 menit di atas penangas air. Reaksi positif ditandai dengan adanya perubahan warna dari oranye menjadi merah (Ahmad, 1986).

5. Uji Kandungan Flavonoid dengan Metode KLT

Fase diam yang digunakan dalam KLT yaitu silika yang bersifat polar, adapun fase gerak yang digunakan adalah larutan pengembang yang terdiri atas n-butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5). Sampel ditotolkan pada plat silika gel F254 yang telah diaktivasi dengan pemanasan oven selama 5-10 menit pada suhu 100°C, kemudian plat dimasukkan ke dalam *chamber* berisi larutan pengembang yang telah dijenuhkan. Elusi dilakukan hingga terjadi pemisahan Rf sampel dan standar, setelah selesai, plat diangin-anginkan dan diberi uap amonia, hasil positif ditandai dengan adanya bercak berwarna kuning, kemudian dideteksi di bawah sinar UV 366 dan 254 nm, selanjutnya diukur Rf sampel dan standar.

6. Uji Bebas Alkohol

Tes ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa L.*) benar-benar bebas dari alkohol, karena beberapa bakteri dapat mati dengan adanya alkohol. Ekstrak ditambah dengan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, jika tidak terbentuk bau ester maka ekstrak daun srikaya bebas alkohol (Depkes RI, 1995).

7. Uji Antibakteri

Suspensi bakteri 1 ml diteteskan secara aseptis ke dalam petridish kosong, lalu media yang masih cair dituang ke dalam petridish dan diputar membentuk angka 8 agar suspensi bakteri dan media homogen. Dibuat sumuran dengan diameter 6 mm. Masing-masing sumuran ditetesi 50 μ l sampel uji, kontrol negatif dan kontrol positif, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Diameter zona hambat diukur dengan satuan mm pada daerah jernih sekitar sumuran kemudian dicatat hasilnya.

8. Pengelolaan dan Analisis Data

Data daya hambat yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis dengan program SPSS windows 21. Diuji Normalitas (*Kolmogorov*) bila Sig > 0,05 maka uji dilanjut ke uji Homogenitas (*Levene Test*) bila Sig > 0,05 maka uji dilanjut menggunakan metode uji statistik *Analisa of Variant* (Anova) *one way* apabila data terdistribusi normal nilai Sig > 0,05 dilanjutkan uji parametrik dengan analisis lanjut *Post Hoc Test* menggunakan metode *Tukey*. Bila data tidak terdistribusi normal < 0,05 maka di uji non parametrik (*Kruskal Wallis dan Mann Whitney*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)

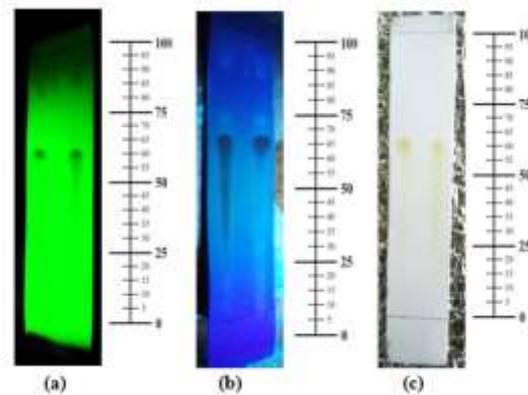
Hasil ekstraksi yang diperoleh Simplisia daun srikaya hijau sebanyak 70 gram dilarutkan dalam 525 ml etanol 70% dan simplisia daun srikaya merah sebanyak 50 gram dilarutkan dalam 375 ml etanol 70%. Ekstrak kental srikaya hijau yang didapat setelah dilakukan penguapan sebanyak 11,627 gram dan ekstrak kental srikaya merah yang didapat setelah dilakukan penguapan sebanyak 7,649 gram. Hasil persentase perhitungan rendemen ekstrak srikaya hijau didapatkan sejumlah 16,61% dan presentase perhitungan rendemen ekstrak srikaya merah didapatkan sejumlah 15,29%.

2. Hasil Identifikasi Kandungan Flavonoid pada Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*)

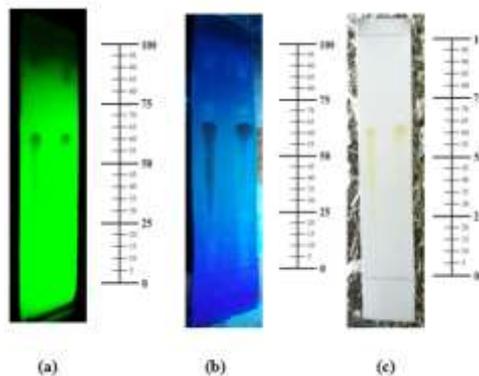
Ekstrak daun srikaya hijau dan merah yang diperoleh selanjutnya diuji skrining fitokimia secara kualitatif. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan flavonoid yang diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Ekstrak kental daun srikaya sebanyak 1 gram dilarutkan dengan air panas, kemudian dipanaskan selama 5 menit dan ditambahkan serbuk Mg, HCl pekat dan amil alkohol dengan perbandingan (1:1). Uji skrining fitokimia flavonoid apabila reaksi positif ditandai dengan adanya perubahan warna dari oranye menjadi merah dan terdapat warna orange pada lapisan amil alkohol (Ahmad, 1986). Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun srikaya hijau dan merah positif mengandung flavonoid ditandai dengan adanya warna oranye pada lapisan amil alkohol.

3. Uji Kandungan Flavonoid dengan Metode KLT

Hasil elusi yang menunjukkan bercak berfluoresensi diukur panjang R_f -nya menggunakan penggaris. Hasil uji KLT pada ekstrak daun srikaya dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Uji KLT Pada Ekstrak Daun Srikaya Hijau Setelah Diberi Uap Amonia



Gambar 2. Uji KLT Pada Ekstrak Daun Srikaya Merah Setelah Diberi Uap Amonia

Profil KLT yang diamati secara visibel menunjukkan bahwa bercak dari ekstrak daun srikaya hijau dan senyawa pembanding memiliki warna kuning yang sama dan hasil R_f adalah 0,63 dan ekstrak daun srikaya merah memiliki nilai R_f 0,65. Persamaan ini ditegaskan dengan pereaksi amonia untuk mengamati adanya senyawa flavonoid (Harborne, 1987; Wagner, dkk., 1984). Hasil positif pereaksi amonia ditandai dengan adanya warna kuning pada bercak sampel dengan warna semakin lebih jelas (Harborne, 1987; Markham, 1988). Deteksi senyawa dilakukan di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm dan secara visual. Gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa ekstrak daun srikaya mengandung senyawa flavonoid.

4. Hasil Uji Bebas Alkohol

Kandungan etanol pada ekstrak dapat mempengaruhi hasil uji antibakteri karena etanol dapat memberikan hasil positif palsu sebagai antibakteri, oleh karena itu ekstrak harus bebas kandungan etanol (Farida, 2016). Uji bebas etanol memberikan hasil bahwa ekstrak daun srikaya yang sudah dipekatkan tidak mengandung etanol. Hasil ini ditandai dengan tidak terciumnya bau ester selama dilakukan pengujian.

5. Hasil Uji Antibakteri

Diameter zona hambat menunjukkan terjadinya aktivitas antibakteri antara ekstrak daun srikaya hijau dan merah yang hampir sama. Dapat dilihat jika konsentrasi 25% memiliki aktivitas yang hampir sama antara ekstrak srikaya hijau dan merah dan begitupun dengan konsentrasi-konsentrasi yang lain. Tidak adanya perbedaan aktivitas yang terlalu besar antara ekstrak daun srikaya hijau dan merah dikarenakan ekstrak yang sama-sama mengandung senyawa flavonoid. Perbedaan konsentrasi juga mempengaruhi hasil diameter zona hambat, sehingga semakin tinggi konsentrasi uji maka semakin tinggi diameter zona hambat yang dihasilkan (Ramadhani, 2014).

Tabel 1. Uji Antimikroba pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			
	Srikaya Hijau	Kriteria	Srikaya Merah	Kriteria
25%	10,7 ± 0,32	Resisten	11,7 ± 0,36	Resisten
50%	16,1 ± 0,76	Intermediet	15,3 ± 0,49	Intermediet
75%	19,4 ± 0,4	Sensitif	19,1 ± 0,9	Sensitif
Kontrol Negatif	7,0 ± 0,00	Resisten	7,0 ± 0,00	Resisten
Kontrol Positif	20,4 ± 0,51	Sensitif	20,4 ± 0,51	Sensitif

Data yang sudah memenuhi persyaratan selanjutnya diuji menggunakan uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada kelompok perlakuan. Hasil menunjukkan bahwa dalam kelompok perlakuan terdapat minimal satu kelompok yang mempunyai perbedaan zona hambat secara bermakna, yang ditandai dengan nilai *Sig.* (0,000) < α (0,05). Kolom *sum of squares* menunjukkan nilai *between group* lebih besar dari *within group*, hal ini menunjukkan bahwa perbedaan yang muncul diakibatkan karena adanya perlakuan yang berbeda-beda (Soleh, 2005).

Data yang sudah diuji *Anova* kemudian diuji *Post Hoc* dengan menggunakan uji *Tukey* untuk mengetahui pada kelompok perlakuan mana saja yang terdapat perbedaan (Putra *et al.*, 2014). Data yang mempunyai nilai signifikansi < 0,05 menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antibakteri yang bermakna antar kelompok yang dibandingkan. Data dengan nilai signifikan > 0,05 menunjukkan tidak ada perbedaan aktivitas antibakteri yang bermakna antar kelompok yang dibandingkan (Putra *et al.*, 2014). Hasil menunjukkan bahwa kelompok ekstrak daun srikaya hijau konsentrasi 25% dengan ekstrak daun srikaya merah konsentrasi 25% tidak memiliki adanya perbedaan aktivitas antibakteri yang bermakna antar kelompok begitupun juga dengan konsentrasi-konsentrasi yang lainnya. Konsentrasi 75% ekstrak daun srikaya hijau, konsentrasi 75% ekstrak daun srikaya merah, dan kontrol positif tidak memiliki adanya perbedaan aktivitas antibakteri yang bermakna antar kelompok dikarenakan nilai *Sig.* > α (0,05) maka aktivitas antibakteri ekstrak daun srikaya hijau dan merah konsentrasi 75% memiliki aktivitas yang hampir sama dengan kontrol positif. Kontrol negatif memiliki *Sig.* < α (0,05) karena memiliki aktivitas antibakteri yang paling kecil atau resisten sehingga berbeda dengan kelompok perlakuan lain.

KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun srikaya hijau dan merah positif mengandung senyawa flavonoid. Ada perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak daun srikaya hijau dan merah dengan konsentrasi terbaik yaitu 75%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Kamunika.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta; Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta : Depkes RI. Hal. 10-11.
- Djajanegara, I. Dan P. Wahyudi. 2009. *Pemakaian Sel Hela dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun Annona Squamosa*.
- Farida, Lailatul. 2016. *Pengaruh Kadar Hidroksi Propil Metil Selulosa (HPMC) sebagai pengental Terhadap Uji Karakteristik Shampo Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.)*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan kedua*. Terjemahan: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Jawetz, E., G.E. Melnick., C.A. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Buku 2. Diterjemahkan oleh dr. Nani Widorini. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Manoi, F. & Balitro. 2009. *Binahong (Anredera Cordifolia) Sebagai Obat*. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Nurkusuma, D. 2009. *Faktor yang Berpengaruh Terhadap Metichillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) pada Kasus Infeksi Luka Pasca Operasi di Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang*. (Tesis). Universitas Diponegoro. Semarang. 28 pp.
- Putra M. P., et al. 2014. *Perbandingan Efektifitas Antipiretik antara Ekstrak Etanol Kunyit Putih (Curcuma zedoaria Rosc) dengan Parasetamol pada Tikus Model Demam*. Prosiding Pendidikan Dokter. Gelombang 2: 407-415.
- Ramadhani, Zamrotul Izzah, Isnaeni, Noor. 2014. *Aktivitas Antibakteri Kombinasi Probiotik (Bifidobacterium bifidum dan Lactobacillus acidophilus) dengan Infus Daun Jambu Biji (Psidium guajava)*. Jurnal Berkala Ilmiah Kimia Farmasi. Vol. 3(1).
- Sabella, R. 2009. *101 Terapi Herbal, Buah dan Sayuran untuk Diabetes Cara Cerdas Melibas Diabetes, Abata Sehat, Klaten*. Hal. : 32-33.
- Septyaningsih, D. 2010. *Isolasi Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Soleh, A. Z. 2005. *Ilmu Statistik : Pendekatan Teoritis Dan Aplikatif Disertai Contoh Penggunaan SPSS*. Bandung : Rekayasa Sains
- Wandasari, F., Ruslan, K. dan Kusmardiyani, S. 2007. *Telaah Fitokimia Daun Srikaya (Anona Squamosa L.) yang berasal dari dua lokasi tumbuh, Skripsi, Penelitian Obat Bahan Alam, Sekolah Farmasi ITB Bandung*.