

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata*
Linn) FORTIFIKASI NANOKITOSAN SEBAGAI
ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN**

*EFFECTIVENESS OF SOURSOP LEAF EXTRACT (*Annona muricata* Linn) FORTIVICATION WITH NANOCHITOSAN AS ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES*

**ITA HASMILA
H012171009**



**PRODI MAGISTER KIMIA
JURUSAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



Optimization Software:
www.balesio.com

TESIS

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn)
FORTIFIKASI NANOKITOSAN SEBAGAI
ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN

Disusun dan diajukan oleh :

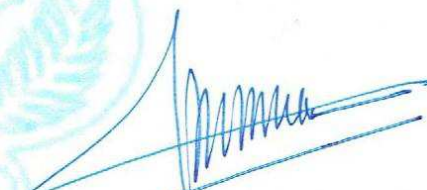
ITA HASMILA
Nomor Pokok : H012171009

Telah dipertahankan didepan Panitia Ujian Tesis
Pada tanggal 8 Agustus 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Komisi Penasehat



Dr. Hasnah Natsir, M.Si
Ketua



Prof. Dr. Nunuk Hariani S, MS
Anggota

Ketua Program Studi
Magister Kimia,



Natsir, M.Si

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin,



Dr. Eng. Amiruddin, M.Si



**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata*
Linn) FORTIFIKASI NANOKITOSAN SEBAGAI
ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Kimia

Disusun dan diajukan Oleh

ITA HASMILA

Kepada

**PRODI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Ita Hasmila
Nomor mahasiswa : H012171009
Program studi : Kimia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 8 Agustus 2019

Yang menyatakan

Ita Hasmila



PRAKATA

Segala puji hanya milik Allah ‘Azza wa Jalla, kepada-Nya penulis memohon pertolongan dan ampunan-Nya, serta bertaubat kepada-Nya dari segala keburukan. Berkat rahmat dan taufik-Nya sehingga tesis ini dapat terselesaikan. Salam dan shalawat semoga senantiasa tercurahkan kepada Sayyid (panutan) kita dan pemimpin para makhluk, Rasulullah Muhammad *Shalallahu ‘alaihi wa Sallam*, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya yang baik dan setia hingga hari kiamat.

Alhamdulillah penelitian yang berjudul “**Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Fortifikasi Nanokitosan sebagai Antibakteri dan Antioksidan**” ini telah kami susun dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S2) dari jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Gagasan yang melatari tajuk permasalahan ini timbul dari hasil pengamatan penulis terhadap pemanfaatan bahan alam dalam mengatasi permasalahan kesehatan masyarakat, khususnya daun sirsak dan nanokitosan serta fortifikasi keduanya sebagai antibakteri dan antioksidan.

Berbagai kendala dan tantangan yang dialami penulis namun berkat do’a, motivasi, dan dukungan dari berbagai pihak, maka tesis ini dapat

selesaikan. Dalam kesempatan ini penghargaan khusus penulis sampaikan kepada orang tua (Bapak Almarhum Mido’ dan Ibunda Harabi)



serta mertua kami (Bapak Sirajuddin dan Ibunda Suriyani, S.Pd) atas segala bantuan, motivasi dan mendukung dengan penuh kasih sayang dan kesabaran serta senantiasa mendoakan keberhasilan penulis, juga kepada adikku satu-satunya Muhammad Dirham, A.Md atas segala bantuan, motivasi dan doanya. Permohonan maaf dan ucapan terima kasih kepada suami Adrian Ariono A.Md.Kg dan putriku tercinta Fakhirah Hafidzhah atas kesabaran, do'a dan dukungannya yang senantiasa mengiringi langkah penulis dengan penuh ikhlas *jazaakumullahu khairan katsiran*, semoga Allah memberkahi kalian semua. Aamiin.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada dosen pembimbing, Ibu Dr. Hasnah Natsir, M.Si dan Ibu Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S sekaligus sebagai penasehat akademik penulis yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan selama penulis di bangku kuliah hingga dapat menyelesaikan penelitian ini. Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. H. Abd. Wahid Wahab, M.Sc, Ibu Dr. Paulina Taba, M.Phil, dan Ibu Dr. Rugaiyah Arfah, M.Si sebagai tim penguji yang telah banyak memberikan arahan dan masukan yang sangat bermanfaat untuk penulis.

Segenap hati tulus dan penuh hormat penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Hasanuddin Makassar, Dekan Sekolah Pascasarjana Unhas, Dekan FMIPA Unhas Bapak . Amiruddin, S.Si, M.Si., Ketua Program Studi Magister Kimia Unhas Ibu Dr. Hasnah Natsir, M.Si., beserta seluruh staf atas ilmu



dan dukungan yang telah diberikan selama perkuliahan. Terima kasih pula penulis sampaikan kepada Kepala Laboratorium Biokimia Ibu Dr. Rugaiyah Arfah, M.Si dan staf Laboratorium Biokimia Ibu Mahdalia, S.Si. M.Si dan Andi Akbar S.Si. atas segala bantuannya dalam melaksanakan penelitian ini.

Terima kasih pula penulis sampaikan kepada seluruh analis pada Departemen Kimia FMIPA Unhas, Pak Sugeng, Ibu Tini, Ibu Linda, dan Kak Febhy serta staf analis XRD Science Building, Kak Anto yang telah banyak membantu penulis selama melakukan penelitian.

Terima kasih kepada teman-teman Program Magister Kimia yang telah memberi dukungan dan bantuan kepada penulis selama perkuliahan hingga mengerjakan tugas akhir dan juga kepada teman-teman seperjuangan di Lab Biokimia, khususnya partner penelitian Andi Citra Junopia dan Triswono Ramdhan Zarkoni yang telah kebersamai penulis dalam berjuang bersama menyelesaikan penelitian ini.

Sahabat ukh Asmi dan Icha, terima kasih banyak penulis ucapkan sejak memulai perkuliahan pada Program Magister Kimia telah memberi motivasi dan mendoakan penulis serta bersama-sama berbagi suka dan duka dalam berbagai hal *jazaakumullahu khairan katsiran*, semoga lancar hingga selesai Program Doktoralnya ukhtifillah.

Kakak-kakak senior Program Magister Kimia, kak Leliani, Kak

Kak Liska dan ukh Bahriah terima kasih banyak penulis ucapkan motivasi, dukungan dan mendoakan penulis dan juga kepada adik-



adik mahasiswa S1 di Laboratorium Biokimia dan Organik yang sudah sangat banyak membantu penulis, semoga Allah membalas kebaikan kalian. aamiin

Terima kasih kepada sahabat-sahabatku Ukh Ilvy, Ros, Mely, Mawaddah, Icha, Kak Nurmasita, Kak Deyha, Kak Nur Fitriani, Kak Eka serta teman-teman halaqah tarbiyah dan pengurus dakwah Muslim Cerdas (MuDas) atas segala motivasi dan do'anya.

Terima kasih pula kepada seluruh keluarga besar penulis yang selalu memberikan semangat, dorongan, dan doanya untuk keberhasilan penulis serta kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan namanya yang telah mengisi hari-hari penulis dalam berbagai aktivitas, terima kasih atas segala bantuan, perhatian, motivasi, canda tawa dan kebersamaannya dalam suka dan duka.

Tiada kata yang lebih berharga yang dapat penulis sampaikan selain ucapan terima kasih dan rasa syukur yang mendalam. Semoga Allah SWT membalas segala bantuan yang telah diberikan dan bernilai ibadah disisi-Nya dan mendapat pahala yang setimpal. Aamiin.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran dari semua pihak sangat kami harapkan demi kesempurnaannya.

Makassar, Agustus 2019

Ita Hasmila



ABSTRAK

ITA HASMILA. *Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata Linn) Fortifikasi Nanokitosan sebagai Antibakteri dan Antioksidan* (dibimbing oleh Dr. Hasnah Natsir, M.Si dan Prof. Dr. Nunuk Hariani S. M.S).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn), mengkarakterisasi nanokitosan yang diperoleh meliputi analisis ukuran partikel dan bentuknya, menganalisis efektivitas ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn), nanokitosan, dan pengaruh fortifikasi keduanya terhadap aktivitas antibakteri dan antioksidan. Metode penelitian yang dilakukan adalah ekstraksi dan uji fitokimia daun sirsak (*A. muricata* L.) yang diperoleh dari Desa Tambangan, Bulukumba. Pembuatan nanokitosan dengan metode gelasi ionik, uji antibakteri dengan metode difusi agar dan antioksidan dengan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) terhadap ekstrak daun sirsak, nanokitosan dan fortifikasi ekstrak daun sirsak dengan nanokitosan. Karakterisasi nanokitosan dilakukan dengan alat FTIR, XRD dan TEM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dari ekstrak daun sirsak (*A. muricata* Linn) adalah steroid, alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin. Karakteristik nanokitosan yang diperoleh berupa amorf, berbentuk heksagonal tidak seragam dan ukuran partikel berkisar antara 14,10 hingga 78,59 nm, serta daun sirsak (*A. muricata* Linn) dan nanokitosan memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antioksidan. Pada fortifikasi ekstrak daun sirsak (*A. muricata* Linn) dan nanokitosan yang tertinggi dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara berturut-turut pada perbandingan 3:1 dan perbandingan 1:3 serta berpengaruh meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidan tertinggi pada perbandingan 3:1 dengan IC_{50} 131,749.



ABSTRACT

ITA HASMILA. *Effectiveness of Soursop Leaf Extract (Annona muricata Linn) Fortification with Nanochitosan as Antibacterial and Antioxidant* (guided by Dr. Hasnah Natsir, M.Si and Prof. Dr. Nunuk Hariani S. M.S).

This study aims to identify secondary metabolite compounds that contained in soursop leaf extract (*Annona muricata* Linn), characterize the nanochitosan including analysis of particle size and shape, effectiveness of soursop leaf extract (*Annona muricata* Linn), nanochitosan, and the fortification effect of soursop leaf extract and nanochitosan to antibacterial and antioxidant. Research methods were extraction and phytochemical test of soursop leaf (*A. muricata* L.) from Tambangan Village, Bulukumba. Nanochitosan was made by ionic gelation method. Antibacterial analysis was by using agar diffusion method. The antioxidant test of soursop leaf extract, nanochitosan and the fortification materials was by using 2,2-diphenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) method. The characteristics of nanochitosan were carried out by FTIR, XRD and TEM. The results showed that secondary metabolite compounds in soursop leaf extract (*A. muricata* Linn) were steroid, alkaloid, flavonoid, phenolic and saponin. Characteristic of nanochitosan was amorphous with non-uniform hexagonal shape and particle sizes ranges between 14,10 to 78.59 nm. Soursop leaf extract, nanochitosan and the fortification materials have antibacterial and antioxidant activities. The highest antibacterial activity of the fortification materials in inhibiting *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria was in ratio of 3:1 and 1:3, respectively. The highest antioxidant activity was in a ratio of 3:1 with IC₅₀ 131,749.



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN TESIS	ii
HALAMAN PENGAJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Uraian Tentang Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn)	8
B. Uraian Tentang Kitosan	14
C. Uraian Tentang Nanokitosan	22



D. Uraian Tentang Antibakteri	26
E. Uraian Tentang Antioksidan	28
F. Kerangka Konseptual	34
G. Hipotesis	36
BAB III. METODE PENELITIAN	37
A. Waktu dan Tempat Penelitian	37
B. Bahan dan Alat Penelitian	37
1. Alat penelitian	37
2. Bahan penelitian	37
C. Prosedur Penelitian	38
1. Ekstraksi sampel daun sirsak	38
2. Uji fitokimia ekstrak daun sirsak	39
3. Pembuatan nanokitosan dengan metode gelasi ionik	40
4. Uji antibakteri	41
5. Uji antioksidan	43
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	45
A. Ekstraksi sampel daun sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn)	45
B. Uji fitokimia ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn)	47
C. Karakteristik Kitosan	53
D. Sintesis dan Karakteristik Nanokitosan	57
E. Uji Aktivitas Antibakteri	66
Uji Aktivitas Antioksidan	75



BAB II. KESIMPULAN DAN SARAN	83
A. Kesimpulan	83
B. Saran	84
DAFTAR PUSTAKA	85
LAMPIRAN	94



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Skrining fitokimia berbagai bagian dari sirsak (<i>A. muricata</i> L.)	11
2. Beberapa penelitian tentang antibakteri daun sirsak	13
3. Beberapa penelitian tentang antioksidan daun sirsak	13
4. Sifat-sifat dan pemanfaatan kitosan	16
5. Serapan FTIR karakteristik untuk kitin dan kitosan	17
6. Spesifikasi kitosan niaga	19
7. Penelitian tentang antibakteri dan antioksidan kitosan	20
8. Konsentrasi minimum (KM) dari kitosan yang mampu menghambat beberapa mikroorganisme	21
9. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH	33
10. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun <i>A. muricata</i> L.	48
11. Hasil karakterisasi produk kitosan	55
12. Diameter zona hambatan dari ekstrak daun <i>A. muricata</i> L.	68
13. Diameter zona hambatan dari nanokitosan	72
14. Diameter zona hambatan dari fortifikasi daun <i>A. muricata</i> L. dan nanokitosan	74
15. Aktivitas antioksidan pada <i>A. muricata</i> L.	75
16. Aktivitas antioksidan pada nanokitosan	76
17. Aktivitas antioksidan fortifikasi daun <i>A. muricata</i> L. dan nanokitosan perbandingan 1:1	76
18. Aktivitas antioksidan fortifikasi daun <i>A. muricata</i> L. dan nanokitosan perbandingan 2:1	76



19.	Aktivitas antioksidan fortifikasi daun <i>A. muricata</i> L. dan nanokitosan perbandingan 3:1	77
20.	Aktivitas antioksidan fortifikasi daun <i>A. muricata</i> L. dan nanokitosan perbandingan 1:2	77
21.	Aktivitas antioksidan fortifikasi daun <i>A. muricata</i> L. dan nanokitosan perbandingan 1:3	77
22.	Aktivitas antioksidan asam askorbat (kontrol positif)	78



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Daun sirsak	10
2. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan	15
3. Sintesis nanopartikel: <i>top-down</i> dan <i>bottom-up</i>	24
4. Ilustrasi matriks nanopartikel dengan metode gelasi	26
5. Kerangka konseptual	35
6. Reaksi uji Meyer	49
7. Reaksi uji Wagner	50
8. Reaksi uji flavonoid	51
9. Reaksi uji fenolik	52
10. Reaksi uji terpenoid dan steroid	53
11. Kitosan dari cangkang kepiting merah <i>Pharma grade</i>	54
13. (a) Larutan nanokitosan (b) Serbuk nanokitosan	58
14. Proses ikat silang ionik kitosan dengan TPP	59
15. Penambahan surfaktan tween 80 dalam pembentukan nanokitosan	60
16. Spektra IR (a.) Kitosan (b). Na-TPP (c). Nanokitosan	62
17. Pola difraksi sinar-X nanokitosan	65
18. Morfologi nanopartikel pada TEM pada perbesaran (a) 500nm (b) 200nm (c) 100 nm	66
19. Reaksi penghambatan radikal bebas DPPH oleh antioksidan	82



DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan keterangan
ANOVA	Analysis of Varians
CFU	Coloni Forming Units/ Jumlah koloni bakteri per unit
Cps	Centipoise (satuan kekentalan)
DA	Dasetilasi, yaitu proses penghilangan gugus asetil
DD	Derajat Deasetilasi (persentase gugus asetil yang hilang)
DM	Demineralisasi, yaitu proses penghilangan mineral
DP	Deproteinase, yaitu proses penghilangan protein
DPPH	Diphenyl Picrylhydrazyl
FTIR	Fourier Transform Infra Red/ spektroskopi infra merah
MHA	Media Hinton agar (Mullon Hinton Agar)
TEM	Transmission Electron Microscopy/Mikroskop Pemindai Elektron
XRD	X-Ray Difrraction
TPP	Tripoliposfat



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Bagan kerja ekstraksi daun sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn.)	94
2. Bagan uji fitokimia	95
3. Bagan kerja proses pembuatan nanokitosan	97
4. Bagan kerja uji antibakteri ekstrak daun sirsak, nanokitosan dan fortifikasi ekstrak daun sirsak dengan nanokitosan	98
5. Bagan kerja uji antioksidan ekstrak daun sirsak, nanokitosan dan fortifikasi ekstrak daun sirsak dengan nanokitosan	99
6. Spektroskopi FTIR pada kitosan, NaTPP dan nanaokitosan	100
7. Diameter pada XRD	103
8. Data spektrum XRD nanokitosan	104
9. Perhitungan aktivitas antimikroba	106
10. Perhitungan aktivitas antioksidan	110
11. Foto proses ekstraksi daun <i>A. muricata</i> L.	125
12. Karakteristik kitosan	127
13. Sintesis dan karakterisasi nanokitosan	128



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan obat herbal baik dari tanaman ataupun sumber daya hayati laut telah digunakan secara tradisional oleh masyarakat Indonesia untuk mengatasi permasalahan kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat didasarkan pada pengalaman dan keterampilan secara turun temurun. Masyarakat memilih obat herbal karena obat-obatan tersebut tidak memiliki efek samping, cukup mudah memperolehnya, biaya murah dan sebagai dukungan pelaksanaan program *go green* (kembali ke alam). Adanya tanaman obat dari alam yang tumbuh melimpah di Indonesia, meningkatkan penggunaan obat tradisional dan semakin berkembang luas di masyarakat (Mardiana, *et al.*, 2015).

Salah satu jenis tanaman obat yang sering dimanfaatkan di Indonesia adalah sirsak (*Annona muricata* Linn). Sirsak merupakan tumbuhan dengan berbagai macam manfaat bagi kesehatan baik yang diperoleh dari daging buah, kulit batang, bunga, akar, biji maupun daunnya (Mardiana, *et al.*, 2015). Menurut Depkes (2018), manfaat daun

dalam bidang kesehatan diantaranya untuk mencegah dan



mengobati penyakit kanker, mengobati wasir, menurunkan kolesterol dan menghilangkan jerawat.

Beberapa penelitian ilmiah juga telah membuktikan khasiat dari ekstrak daun sirsak. Ekstrak etanol, metanol, etil-asetat dan n-heksan daun sirsak bersifat aktif terhadap bakteri dan jamur seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, (Fibonacci dan Hulyadi, 2018; Olugbuyiro, *et al.*, 2017; Lawal, *et al.*, 2017; Tuna, dkk, 2015; Sulastrianah, 2014). Ekstrak etanol, air dan n-heksan daun sirsak menunjukkan sifat antioksidan dengan menetralkan radikal bebas menggunakan metode DPPH (Lawal, *et al.*, 2017; Gavamukulya, *et al.*, 2014).

Manfaat ekstrak daun sirsak sebagai antioksidan yang dilaporkan berkorelasi dengan kandungan senyawa metabolit sekunder. Daun sirsak memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder fenol, flavonoid, alkaloid, dan lipid esensial (Agu, *et al.*, 2017). Hal ini didukung oleh penelitian Gavamukulya, *et al* (2014), tentang skrining fitokimia ekstrak etanol daun sirsak mengandung senyawa alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, kumarin, lakton, antrakuinon, fenol, dan fitosterol.

Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki banyak manfaat, seperti flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dan antikanker, terpenoid, alkaloid dan fenol berperan sebagai antibakteri dan anti jamur (anti

), saponin berfungsi membantu meningkatkan sistem kekebalan antioksidan, antibakteri, antikarsinogenik, anti tumor dan



menurunkan resiko kanker (Kumoro, 2015). Selain itu, kandungan lain dalam daun sirsak adalah adanya senyawa asetogenin, yang berfungsi sebagai antiparasit, antihiperqlikemik, antikanker, antiradang, analgesik, penyembuhan luka, antioksidan serta antibakteri (George, *et al.*, 2017; Sumantri, dkk., 2014).

Penelitian terkait sumber antibakteri dan antioksidan terus mengalami perkembangan. Selain daun sirsak, sumber antibakteri dan antioksidan lain yang sampai saat ini potensial terus dikembangkan adalah kitosan. Kitosan adalah suatu polisakarida yang diperoleh dari hasil deasetilasi kitin, yang umumnya berasal dari limbah kulit hewan *Crustacea*, seperti cangkang kepiting, rajungan, kerang dan kulit udang (Hargono, dkk., 2008).

Kitosan dapat diaplikasikan sebagai antikanker, anti-inflamasi, antioksidan dan antimikroba (Gumgumjee, *et al.*, 2018; Kumari dan Dutta, 2010; Nadia, dkk; 2014; Samar, *et al.*, 2013). Kitosan memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena dapat menetralsisir radikal bebas. Kitosan juga memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* (Samar, *et al.*, 2013). Menurut hasil penelitian Gumgumjee, *et al* (2018), kemampuan antibakteri dari kitosan juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae* dengan jalan merusak

n sel karena memiliki muatan positif kitosan yang kuat dapat t muatan negatif dari senyawa lain.



Kemampuan kitosan yang diterapkan dalam berbagai bidang industri modern seperti bidang farmasi, biokimia, kosmetika, pertanian, industri pangan, dan industri tekstil, mendorong para peneliti dan praktisi industri untuk terus mengembangkannya dalam berbagai penelitian, termasuk melakukan modifikasi kitosan secara kimia atau fisik. Modifikasi fisik pada kitosan mencakup perubahan ukuran partikel menjadi lebih kecil untuk pemanfaatan yang lebih luas. Perkembangan modifikasi fisik mengarah ke bentuk nanopartikel. Nanopartikel kitosan merupakan kitosan yang partikelnya berukuran 1-100 nm (Mohanraj dan Chen, 2006). Nanokitosan mempunyai keunggulan bersifat reaktif, mampu meningkatkan kelarutan senyawa atau zat aktif, mengurangi dosis pengobatan dan meningkatkan absorpsi obat dari kitosan (Suwarda dan Maarif, 2012).

Keunggulan nanokitosan tersebut akan semakin meningkatkan aplikasinya dalam berbagai bidang kehidupan seperti menangani pencemaran air, adsorben, penyembuh luka, pelepasan obat, penurunan kolesterol, antikanker, antioksidan dan antibakteri. Keunggulan nanokitosan tersebut dapat meningkatkan kesehatan masyarakat dalam melawan berbagai penyakit. Perkembangan penyakit saat ini semakin meningkat jumlahnya yang disebabkan oleh bakteri patogen, seperti bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri *S. aureus*

adalah jenis bakteri patogen utama pada manusia yang bertanggung



jawab atas 80% penyakit supuratif (peradangan) dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya (Volk, 1993).

Selain penyakit akibat bakteri patogen, penyebab penyakit lainnya terjadi karena perubahan pola hidup dan pola makan pada masyarakat. Hal ini mengakibatkan pola perkembangan penyakit telah bergeser dari penyakit infeksi ke penyakit degeneratif seperti inflamasi jaringan, mutasi gen kanker, katarak, penuaan dini, tumor, diabetes sehingga tubuh membutuhkan senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan berperan sebagai penangkal utama radikal bebas, oksidasi asam nukleat, protein, lemak, dan DNA dengan cara mengikat radikal bebas atau molekul reaktif lainnya, sehingga berbagai penyakit degeneratif dan kelainan biologis dapat dicegah (McGee, dkk., 2006; Setiyanto, 2012).

Peranan antioksidan sangat penting dalam menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak di dalam biomolekul. Dalam jumlah yang sedikit, radikal bebas dapat dinetralkan oleh sistem enzimatik tubuh seperti enzim katalase, glutathione peroksidase, superoksida dismutase dan glutathione-S-transferase. Bila jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebih maka dibutuhkan antioksidan yang berasal dari luar tubuh (eksogenik) seperti flavonoid, vitamin A, vitamin C dan vitamin E (Setiyanto, 2012). Sehingga untuk meningkatkan kesehatan masyarakat, sumber-sumber antioksidan

antibakteri yang potensial perlu terus dikembangkan.



Penelitian tentang fortifikasi ekstrak daun sirsak dan nanokitosan perlu dilakukan karena daun sirsak dan nanokitosan diketahui memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan antioksidan, namun belum pernah dilakukan fortifikasi terhadap kedua bahan tersebut. Diharapkan dengan adanya fortifikasi ekstrak daun sirsak dengan nanokitosan, maka dapat meningkatkan kemampuannya sebagai antibakteri dan antioksidan. Atas dasar pemikiran tersebut, maka dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas ekstrak daun sirsak (*A. muricata* L.) yang difortifikasi kitosan sehingga dapat dimanfaatkan sebagai solusi dari permasalahan kesehatan.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. senyawa metabolit sekunder apa yang terkandung dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn)?
2. bagaimana karakteristik nanokitosan yang diperoleh meliputi analisis ukuran partikel dan bentuknya?
3. bagaimana efektivitas antibakteri dan antioksidan dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dan nanokitosan?
4. bagaimana pengaruh fortifikasi nanokitosan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap aktivitas antibakteri dan antioksidannya?



C. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn).
2. mengkarakterisasi nanokitosan yang diperoleh meliputi analisis ukuran partikel dan bentuknya.
3. menganalisis efektivitas antibakteri dan antioksidan dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dan nanokitosan.
4. menganalisis pengaruh fortifikasi nanokitosan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap aktivitas antibakteri dan antioksidannya.

D. MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai berikut :

1. sebagai informasi ilmiah tentang potensi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) yang difortifikasi nanokitosan sebagai antibakteri dan antioksidan.
2. meningkatkan pemanfaatan sumber daya alam dan pengembangan ketersediaan obat-obatan, khususnya dari daun sirsak dan cangkang kepiting sehingga menambah nilai ekonomis.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Tentang Sirsak (*Annona muricata* Linn)

1. Tinjauan umum sirsak (*Annona muricata* Linn)

Sirsak merupakan salah satu tanaman buah yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah dan Amerika Selatan, termasuk Amerika Utara, Amerika Timur Laut dan daerah Tenggara Brazil. Tumbuhan ini menyebar luas ke Asia di antaranya Thailand, Malaysia, dan Indonesia. Pada abad ke-19, tumbuhan sirsak mulai dibudidayakan di Malaysia dan Indonesia (Sukarmin, 2010). Beberapa sinonim dari *A. muricata* Linn diantaranya adalah *A. macrocarpa*, *A. bonplandiana*, *A. cearensis* dan *Guanabanus muricatus* (Noller, 2005).

Menurut Tjitrosoepomo (1991), tumbuhan sirsak dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Class : Dicotyledoneae
Sub Kelas : Dialypetalae
Ordo : Ranales
Family : Annonaceae
Genus : *Annona*
Spesies : *Annona muricata* Linn



2. Manfaat sirsak

Sirsak (*A. muricata* L.) sudah lama dikenal dan lazim dimanfaatkan sebagai obat secara turun temurun oleh masyarakat Indonesia. Pohon sirsak dapat tumbuh tanpa perawatan khusus di kebun atau halaman rumah. Pada zaman dahulu, tanaman sirsak hanya dikenal di masyarakat untuk pengobatan luar, khususnya penyakit kulit. Akan tetapi, sejak tahun 2010, buah sirsak diketahui dapat berkhasiat untuk mengobati disentri, empedu akut, dan kencing batu. Daunnya juga bermanfaat untuk mengatasi sakit kepala, insomnia, penyakit hati, diabetes, hipertensi dan sebagai anti-inflamasi, antispasmodik, disentri, luka borok, bisul, kejang, jerawat, dan kutu rambut (Mardiana, 2015).

Di Afrika tropis, termasuk Nigeria, tanaman sirsak baik dari akar, kulit batang dan daun umumnya digunakan sebagai antiparasit, antispasmodik, zat antikanker, obat penenang, hipotensi, insektisida, batuk, demam, diare, disentri dan penyakit kulit (Adewole dan Ojewole, 2009).

Menurut Depkes (2018), manfaat daun sirsak dalam bidang kesehatan diantaranya sebagai pencegah sekaligus mengobati penyakit kanker, mengobati wasir, menurunkan kolesterol dalam tubuh dan untuk kecantikan bermanfaat untuk menghilangkan jerawat.

Hasil penelitian menyebutkan bahwa daun sirsak efektif sebagai anti-inflamasi, antibakteri dan antifungi (Lawal, *et al.*, 2017), anti-mutagenik, antioksidan, antimikroba dan antidiabetes (Endrini, dkk., 2015),



antiinflamasi, insektisida, larvisida, sitotoksik ke sel kanker, antistress, imunomodulator, antimalaria, antidepresan, penyembuhan luka, hipoglikemik, antikanker dan antitumor (Gavamukulya, *et al.*, 2014), antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* (Olugbuyiro, *et al.*, 2017). Gambar daun sirsak dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun sirsak (Dokumentasi Pribadi, 2019)

Daun sirsak mampu mengatasi jerawat. Bakteri yang sering ditemukan pada jerawat adalah bakteri gram positif yaitu *S.aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Bakteri *S. aureus* biasanya terdapat pada saluran pernafasan atas, kulit, saluran kencing, mulut dan hidung, jaringan kulit bagian dalam dari bisul bernanah, infeksi luka, radang paru-paru dan selaput lendir lainnya (Jawetz, 2001; Rusmiyati, dkk., 2017). Sedangkan bakteri *E. coli* dapat menimbulkan pneumonia, endokarditis, infeksi pada luka dan abses pada berbagai organ (Indah, 2009).



3. Kandungan dalam daun sirsak (*A. muricata* L.)

Daun sirsak merupakan bagian dari tanaman sirsak yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, tanin, fitosterol, kalsium oksalat, alkaloid, steroid, kardiak glikosida, antrakuinon, saponin, kumarin, dan minyak steroid (Sunarjono, 2005).

Hasil skrining fitokimia dari ekstrak metanol berbagai bagian dari sirsak yang dilakukan oleh Agu, *et al.*, (2017) memperoleh hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Skrining fitokimia berbagai bagian sirsak (*A. muricata* L.) (Agu *et al.*, 2017)

Fitokimia	Buah	Daun	Akar-kulit	Kulit Batang
Tanin	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+
Phlobatannins	-	-	-	-
Terpenoid	+	+	+	+
Karbohidrat	+	+	+	+
Glikosida jantung	-	+	+	-
Monosakarida	+	+	+	+
Pentosa	+	+	+	+
Ketosa	+	+	+	+
Pati	+	+	+	+
Protein	+	+	+	+
Arginin	+	+	+	+
Sistein	+	+	+	+
Asam amino aromatik	+	+	+	+
Asam amino fenolik	+	+	+	+
Antrakuinon	-	-	-	-
Alkaloid	+	+	+	+
Steroid	+	+	+	+
	+	+	+	+
Ion klorida dan halida (Cl ⁻)	+	+	+	+
Ion sulfat dan sulfat ion	+	+	+	+
Ion natrium	+	+	+	+



Hasil penelitian Kumar, dkk., (2013) juga menyebutkan bahwa ekstrak daun *A. muricata* L. sangat kaya akan kandungan fitokimia, diantaranya alkaloid, megastigmanes, flavonol triglikosida, fenolat, siklopeptida, minyak esensial serta asetogenin Annonaceous. Selain kandungan tersebut, daun *A. muricata* L. juga terdapat kandungan mineral seperti kalium, kalsium, natrium, tembaga, besi dan magnesium.

Ekstrak metanol daun *A. muricata* L. mengandung metabolit sekunder seperti tannin dan steroid (Pathak, dkk., 2010); ekstrak etanol daun *A. muricata* L. mengandung senyawa flavonoid, yang mana senyawa–senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik (Takahashi, 2016), senyawa fenolik, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan glikosida (Olugbuyiro, *et al.*, 2017). Daun *A. muricata* L. juga mengandung senyawa asetogenin yang memiliki banyak manfaat antara lain sebagai antikanker, antitumor, anti-inflamasi, antidepresi, antivirus, antibakteri (Zuhud, 2011), larvasida, insektisida, antiparasit, bakterisida serta memiliki toksisitas yang efektif terhadap serangga dari beberapa ordo seperti Lepidoptera, Coleoptera, Homoptera dan Diptera (Abubacker, *et al.*, 2014).

4. Beberapa penelitian tentang daun sirsak sebagai antibakteri dan antioksidan

Pada daun sirsak telah dilakukan beberapa penelitian antibakteri
nya dapat dilihat pada Tabel 2.



Tabel 2. Beberapa penelitian tentang antibakteri daun sirsak

Hasil penelitian	Referensi
Ekstrak etil asetat ditemukan sangat aktif terhadap bakteri gram positif <i>S. aureus</i> .	Olugbuyiro, <i>et al.</i> , 2017
Ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhi</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i> , <i>P. notatum</i> dan <i>R. stolonifer</i> .	Lawal, <i>et al.</i> , 2017
Ekstraksi n-heksan dan metanol membuktikan adanya aktivitas antimikroba terhadap <i>B. subtilis</i> dan <i>E. coli</i> .	Fibonacci dan Hulyadi, 2018
Ekstrak etanol mempunyai efek antimikroba terhadap <i>C. diphtheria</i> .	Immanuel, 2014
Ekstrak metanol dapat memberikan aktivitas antimikroba terhadap bakteri <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i> , dan <i>S. thyposa</i>	Fadhilah, 2012

Penelitian antioksidan daun sirsak juga telah dilakukan, beberapa diantaranya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Beberapa penelitian tentang antioksidan daun sirsak

Hasil penelitian	Referensi
Ekstrak memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang bervariasi sesuai area budidaya.	Najmuddin, <i>et al.</i> , 2017
Ekstrak n-heksana menunjukkan sifat antioksidan dengan membersihkan radikal DPPH dengan IC50 sebesar 342,44 µg / mL.	Lawal, <i>et al.</i> , 2017
Ekstrak memiliki aktivitas antioksidan dengan IC50 sebesar 6,23 ppm.	Kurniasih, 2015
Ekstrak etanol dan air daun sirsak memiliki aktifitas dan.	Gavamukulya, <i>et al.</i> , 2014
Ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan dengan IC50 sebesar 11,46±0,04 yang tergolong dan kuat.	Saraswaty, 2013



B. Uraian Tentang Kitosan

1. Tinjauan umum kitosan

Kitosan merupakan senyawa turunan kitin yang kali pertama ditemukan oleh C. Raughet pada tahun 1895 dengan cara memasak kitin dengan basa. Perkembangan penggunaan kitosan meningkat pada tahun 1940-an sedangkan penggunaan kitosan pada aplikasi khusus, seperti bidang farmasi dan kesehatan dimulai pada pertengahan 1980-1990 (Muzzarelli, *et al.*, 2012).

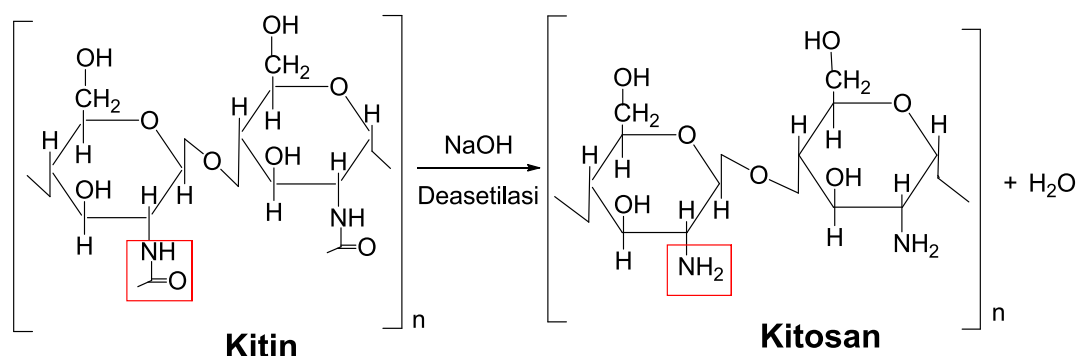
Kitosan adalah suatu polisakarida yang diperoleh dari hasil deasetilasi kitin, yang umumnya berasal dari limbah kulit hewan *Crustacea*, seperti kulit kepiting, rajungan, kerang dan udang. Kitosan memiliki sifat relatif lebih reaktif dari kitin dan mudah diproduksi dalam bentuk serbuk, pasta, film, serat. Kitosan merupakan bahan bioaktif dan aktivitasnya dapat diaplikasikan dalam bidang farmasi, pertanian, lingkungan dan industri. Kitosan sebagai bahan bioaktif dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Agustina, dkk., 2015) dan bahkan dapat membunuh bakteri dengan jalan merusak membran sel (Sarwono, 2010).

Aktivitas antibakteri kitosan dari ekstrak kulit udang dapat menghambat bakteri pembusuk pada makanan lokal yang mengandung bakteri patogen. Muatan positif kitosan diperkirakan dapat berinteraksi dengan permukaan sel bakteri yang bermuatan negatif, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Wulandari, 2008).



Kitosan berbentuk padatan amorf berwarna putih kekuningan, bersifat polielektrolit. Umumnya larut dalam asam organik, pH sekitar 4–6,5, tidak larut pada pH yang lebih rendah atau lebih tinggi. Kelarutan dipengaruhi oleh bobot molekul dan derajat deasetilasi (Natsir dkk., 2010).

Kitosan diperoleh melalui proses deasetilasi kitin yang dapat dilakukan secara kimiawi ataupun enzimatik, reaksi kimianya dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan (Carvalho *et al.*, 2015)

Variasi waktu dan lama perendaman alkali terhadap kitin dapat menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi yang berbeda-beda (Emmawati, dkk. 2007). Derajat deasetilasi (DD) kitosan merupakan salah satu sifat kimia yang menentukan jumlah muatan gugus amina bebas dalam polisakarida. Semakin banyak gugus amina bebas maka kitosan semakin murni (Alvarenga, 2011; Kumiriska, dkk., 2011). Kitin dengan DD 75% dikenal sebagai kitosan. DD dapat mempengaruhi karakteristik kitosan dalam aplikasinya.



Aplikasi kitosan sangat banyak, diantaranya berguna sebagai ulanan, antitumor, antivirus, penambahan dalam obat pembuluh ulit dan ginjal sintetis, bahan pembuat lensa kontak, aditif pada

kosmetik, membran dialisis, bahan shampoo dan kondisioner rambut, penstabil liposom, bahan ortopedik, pembalut luka dan benang bedah yang mudah diserap, serta mempertinggi daya kekebalan, dan antiinfeksi (Sugita, 2009).

Beberapa sifat dan pemanfaatan kitosan antara lain dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sifat-sifat dan pemanfaatan kitosan (Sarwono, 2010)

Sifat-sifat	Pemanfaatan
Kationik : Polielektrolit linier bermuatan tinggi Mengklat ion logam beracun	Pemurnian air Flokulan yang baik
Kimiawi : Berat molekul tinggi Gugus amino dan hidroksil	Viskositas tinggi, film Modifikasi kimia
Biologis : Biokompatibel, biodegradabel Non-toksik, film pengemas	Bioaktivitas Antimikroba, antitumor
Farmasi : Biokompatibel, biodegradable	Penyembuh luka, pelepasan obat, kulit sintesis, kontak lensa
Umum-kosmetik : Pelembab, pakan, penyalut, pelindung	Produk perawatan kulit, perawatan/pemeliharaan rambut
Makanan dan Pertanian: Pengikat ion (asam empedu atau asam lemak)	Penurun kolesterol, antikanker, serat pangan, anti luka
Fungistatik Bakteriologis: Adsorben	Meningkatkan produksi bahan penjerat

Perajat deasetilasi (DD) bergantung pada metode pemurnian dan reaksi. Metode yang dapat dipakai untuk penentuan DD nya tes ninhidrin, titrasi potensiometri linier, spektroskopi NMR,



spektroskopi FTIR, dan turunan spektroskopi UV. Pengukuran gugus fungsi pada DD menggunakan spektroskopi FTIR ditentukan dengan metode *base-line*. Metode ini berdasarkan perbandingan nilai absorbansi pita serapan dari spektrum inframerah dengan rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} (Sugita, 2009).

Gugus fungsi yang karakteristik dari spektra FTIR kitin dan kitosan dapat dilihat pada Tabel 5 (Domsay dan Robert, 1985).

Tabel 5. Serapan FTIR karakteristik untuk kitin dan kitosan

Jenis vibrasi	Bilangan gelombang (cm^{-1})	
	Kitin	Kitosan
OH <i>stretching</i>	3500	3450, 3340
NH (-NH ₂) <i>stretching</i>	-	3400
NH (-NHCOCH ₃) <i>stretching</i>	3265, 3100	-
CH (CH ₃) <i>stretching</i>	2961 (lemah)	-
CH (-CH ₂ -) <i>stretching asym</i>	2928	2926
CH (-CH ₂ -) <i>stretching sym</i>	2871	2864
C=O (-NHCOCH ₃ -) <i>stretching</i>	1655	1650 (lemah)
NH (-NHCOCH ₃ -) <i>bending</i>	1560	-
CN (-NHCOCH ₃ -) <i>stretching</i>	1310	-
NH (R-NH ₂) <i>bending</i>	-	1596
CN <i>stretching</i>		1200-1020
CH (-CH ₂ -) <i>bending asym</i>	1426	1418
CH (-CH ₂ -) <i>bending sym</i>	1378	1377
C-O (-C-O-C-) <i>stretching asym</i>	1077	1082
C-O (-C-O-C-) <i>stretching sym</i>	1024	1033

2. Sifat fisika-kimia kitosan

Kitosan terdiri atas sakarida-sakarida 2-amino-2-deoksi-D-glukosa yang terikat melalui ikatan 1-4 β glikosidik dengan rumus $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_4)_n$.

adalah kitin yang terdeasetilasi sebanyak mungkin dengan derajat asiasi antara 80-90% (Hargono, 2008). Pada umumnya polisakarida



alami seperti selulosa, dekstrin, pektin, alginat, agar-agar, karagenan bersifat netral atau sedikit asam, sedangkan kitin dan kitosan bersifat basa (Kumari dan Dutta, 2010).

Sifat fisik yang khas dari kitosan yaitu mudah dibentuk menjadi spons, larutan, gel, pasta, membran dan serat. Kitosan berupa padatan amorf yang berwarna putih kekuningan dengan rotasi spesifik $[\alpha]_D^{11-3}$ hingga -10 (pada konsentrasi asam asetat 2%). Kitosan dapat larut pada kebanyakan larutan asam organik pada pH sekitar 4,0, tetapi tidak larut pada pH lebih besar dari 6,5 juga tidak larut dalam pelarut alkohol, air dan aseton (Hargono, 2008; Sugita dkk., 2009).

Kitosan larut dalam asam mineral pekat seperti HCl dan HNO₃ pada konsentrasi 0,15-1,1%, tetapi tidak larut pada konsentrasi 10%. Kitosan tidak larut dalam H₂SO₄ pada berbagai konsentrasi, sedangkan dalam H₃PO₄ tidak larut pada konsentrasi 1% sementara pada konsentrasi 0,1% sedikit larut. Kelarutan kitosan dipengaruhi oleh bobot molekul, derajat deasetilasi dan rotasi spesifiknya yang beragam bergantung pada sumber dan metode isolasi serta transformasinya (Sugita, dkk., 2009). Kelarutan kitosan dalam berbagai asam dapat dilihat pada Tabel 6.

Data secara umum spesifikasi kitosan niaga dapat dilihat pada Tabel 6.



Tabel 6. Spesifikasi kitosan niaga (Sugita, dkk., 2009)

Parameter	Ciri
Ukuran partikel	Serpihan sampai bubuk
Kadar air (%)	$\leq 10,0$
Kadar abu (%)	$\leq 2,0$
Warna larutan	Tidak berwarna
Derajat deasetilasi (%)	$\geq 70,0$
Kelas viskositas (cps) :	
- Rendah	< 200
- Medium	200-799
- Tinggi pelarut organik	800-2000
- Sangat tinggi	> 2000

3. Penelitian terkait antibakteri dan antioksidan pada kitosan

Berbagai penelitian mengenai kitosan sebagai sumber antioksidan dan antibakteri mengalami perkembangan. Beberapa diantaranya dapat dilihat pada Tabel 7.



Tabel 7. Penelitian tentang antibakteri dan antioksidan kitosan

Hasil penelitian	Referensi
Sampel kitosan memiliki kemampuan sebagai agen antioksidan dengan nilai DPPH ($41,0 \pm 1 \mu\text{g} / \text{ml}$) dan juga memiliki sifat antibakteri pada <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>B. fragilis</i> , <i>Vibrio cholerae</i> dan <i>Shigella dysenteriae</i> .	Gumgumjee, <i>et al.</i> , 2018
Sampel kitosan berpotensi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan <i>S.epidermidis</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>Propionibacterium agnes</i> dan <i>E.coli</i> pada konsentrasi kitosan 7% b/v.	Suherman, 2018
Konsentrasi larutan nanopartikel kitosan 0,5 ppm, 5 ppm, 50 ppm, 250 ppm dan 500 ppm dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.	Melia, 2017
Sampel kitosan memiliki aktivitas antimikroba pada pengujian antibakteri diperoleh pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% terhadap 10 spesies bakteri dan jamur dan aktivitas antioksidan berkisar antara 18,08% hingga 55,56% pada berbagai konsentrasi (0,1 hingga 10 mg / ml).	Prabu dan Natarajun, 2012
Kompleks kitosan–monosakarida memiliki aktivitas antioksidan kuat yang ditentukan dengan metode DPPH yaitu sebesar 92 – 131 ppm dan daya reduksi 1,059 - 1,274.	Sari, dkk., 2013

Kitosan dapat berfungsi sebagai antibakteri karena mempunyai muatan positif yang kuat yang dapat mengikat muatan negatif dari senyawa lain atau berperan sebagai detoksifikasi, menghambat pertumbuhan bakteri, serta mudah mengalami degradasi secara biologis dan tidak beracun (Kaho dalam Sarwono, 2010).



Tabel 8. Konsentrasi minimum (KM) dari kitosan yang mampu menghambat beberapa mikroorganismen (Sarwono, 2010)

Organisme	KM (ppm)	Organisme	KM (ppm)
Gram negative			
<i>Escherichia coli</i>	20	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
	100		100
	468		>800
	650		700
	1000		>1250
<i>Xanthomonas campestris</i>	500	<i>Listeria monocytogenes</i>	150
<i>Salmonella enterica</i>	2000		250
	3000		800
<i>Salmonella typhimurium</i>	>1000	<i>Candida albicans</i>	250
	1500	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<1000
	2000		2000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>200	<i>Lactobacillus brevis</i>	>1000
	1700	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1000		
<i>Shigella dysenteriae</i>	>200	Fungi	
<i>Vibrio cholera</i>	200	<i>Aspergillus fumigatus</i>	>2000
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	150	<i>Aspergillus parasiticus</i>	>2000
	1000	<i>Fusarium oxysporum</i>	100
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	250	<i>Botrytis cinerea</i>	10
	500	<i>Byssosclamospora spp.</i>	1000-1500
	~1000	<i>Candida albicans</i>	500
			600
			>1250
<i>Enterobacter aerogenes</i>	250		
Gram Positif			
<i>Bacillus cereus</i>	<1000	<i>Drechslera sorokiana</i>	10
	1000	<i>Microsporium canis</i>	1100
		<i>Trichopyton mentagrophytes</i>	2200
<i>S. megaterium</i>	8000		



Ada beberapa faktor yang mempengaruhi keaktifan kitosan terhadap mikroba, meliputi sifat-sifat intrinsik maupun ekstrinsik kitosan. Pada tingkat polimerisasi kitosan, kitosan dengan molekul rendah akan lebih aktif. Makin tinggi tingkat asetilasi dari kitosan makin aktif terhadap antibakterinya dengan memecah dinding sel dari mikroba sehingga tidak berkembang dan mati (Sarwono, 2010).

Mekanisme yang berlaku dimana kitosan bersifat anti mikroba karena kitosan berbentuk membran berpori yang dapat menyerap air, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Disamping itu kitosan mempunyai gugus fungsional amina ($-NH_2$) yang bermuatan positif sangat kuat yang dapat menarik molekul asam amino bermuatan negatif pembentuk protein dalam mikroba. Gugus fungsional amina juga memiliki pasangan elektron bebas sehingga dapat menarik mineral Mg^{2+} yang terdapat pada ribosom dan mineral Mg^{2+} yang terdapat pada dinding sel mikroba membentuk ikatan kovalen koordinasi. Hal tersebut menjadikan kitosan dapat mengakibatkan timbulnya kebocoran konstituen intraseluler sehingga mikroba tersebut akan mati (Sarwono, 2010).

C. Uraian Tentang Nanokitosan

Nanokitosan adalah kitosan yang memiliki partikel yang berbentuk padat dengan ukuran 1-100 nm. Kitosan dalam bentuk nanopartikel bersifat netral, tidak toksik, dan memiliki stabilitas yang konstan. Tujuan dalam melakukan rancangan nanopartikel adalah untuk mengatur partikel, sifat-sifat permukaan, dan pelepasan zat aktif pada tempat



yang spesifik di dalam tubuh sebagai sasaran pengobatan (Mohanraj dan Chen, 2006). Selain itu menurut Abdassah (2017), nanopartikel bertujuan untuk mengatasi kelarutan zat aktif yang sukar larut, memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, memodifikasi sistem penghantaran obat, meningkatkan stabilitas zat aktif dan memperbaiki absorpsi suatu senyawa makromolekul, dan mengurangi efek iritasi zat aktif pada saluran cerna. Kelebihan nanopartikel adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang dapat ditembus oleh partikel koloidal.

Pembuatan nanopartikel dapat diklasifikasikan secara luas menjadi dua kategori yaitu proses *top-down* dan *bottom up*.

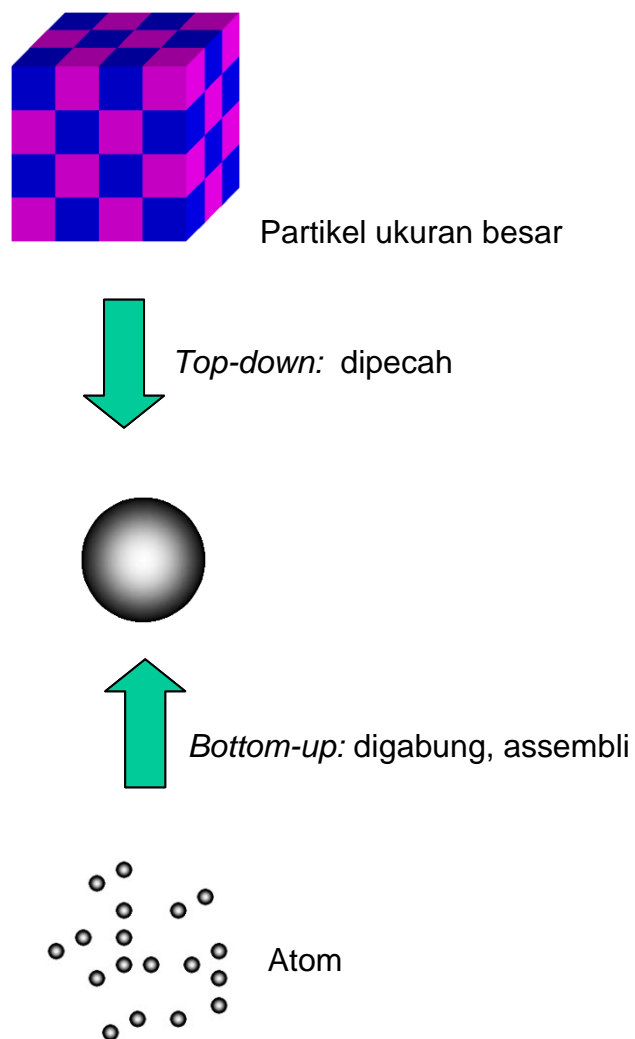
1. Proses *top-down*

Proses *top-down* adalah sintesis nanopartikel dengan cara memecah partikel ukuran besar menjadi partikel berukuran nanometer dengan menggunakan teknik penggilingan yang bervariasi seperti penggilingan media, mikrofluidisasi dan homogenisasi tekanan tinggi. Tidak ada pelarut keras yang digunakan dalam teknik ini. Walaupun demikian, semua proses penggilingan media membutuhkan energi yang tinggi dan tidak efisien. Pertimbangan terhadap banyaknya panas yang dihasilkan dalam metode ini membuat pengolahan material yang termolabil menjadi sulit (Patravale, 2004).



2. Proses *bottom-up*

Proses *bottom-up* adalah pembentukan nanopartikel dari atom-atom atau molekul-molekul. Pada pendekatan *bottom-up*, zat dilarutkan dalam pelarut organik dan kemudian diendapkan pada penambahan antisolvent dalam adanya stabilizer (Patravale, 2004).



3. Sintesis nanopartikel: *top-down* dan *bottom-up* (Abdullah dkk, 2008)



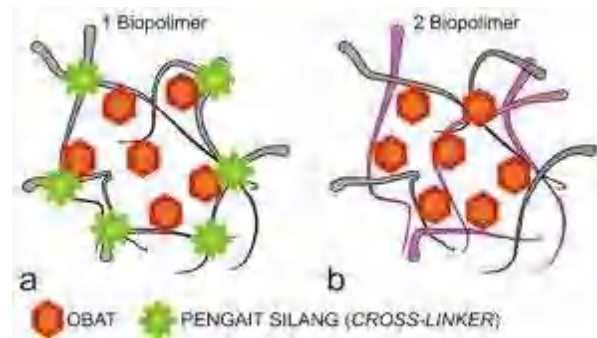
Banyak penelitian difokuskan untuk membuat nanopartikel dari polimer yang *biodegradable* seperti kitosan, gelatin, dan sodium alginat. Metode yang paling umum dalam pembuatan nanopartikel melalui proses gelasi ionik yaitu dengan mencampurkan polimer kitosan dengan polianion sodium tripolifosfat yang menghasilkan interaksi antara muatan positif pada gugus amino kitosan dengan muatan tripolifosfat. Tripolifosfat (TPP) dianggap sebagai zat pengikat silang yang paling baik karena TPP memiliki rapat muatan negatif yang tinggi sehingga interaksi dengan polikationik kitosan akan lebih besar (Mohanraj dan Chen, 2006).

Peran TPP sebagai zat pengikat silang akan memperkuat matriks nanopartikel kitosan. Dengan semakin banyaknya ikatan silang yang terbentuk antara kitosan dan TPP maka kekuatan mekanik matriks kitosan akan meningkat sehingga partikel kitosan menjadi semakin kuat dan keras, serta semakin sulit untuk terpecah menjadi bagian-bagian yang lebih kecil (Wahyono dalam Mohanraj dan Chen, 2006).

Terbentuknya nanopartikel kitosan dengan metode gelasi ionik memiliki banyak keuntungan, diantaranya partikulat terbentuk di bawah kondisi sederhana, ukuran dapat disesuaikan, dapat dikontrol dengan mudah, dan memiliki kapasitas baik untuk berasosiasi dengan makromolekul pada komposisi partikel (Milloti dan Bernkop dalam Fatahu, 2015). Ilustrasi matriks yang terbentuk dengan gelasi ionik dapat dilihat

mbar 4.





Gambar 4. Ilustrasi matriks nanopartikel dengan metode gelasi ionik (Martien, 2012)

D. Uraian Tentang Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa atau kelompok senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri bermanfaat untuk mengendalikan pertumbuhan dan kontaminasi oleh bakteri yang dapat menginfeksi manusia, hewan, serta tanaman dan mengendalikan bakteri yang dapat mencemari makanan dan merusak berbagai bahan seperti kain (tekstil), kulit, struktur berkayu seperti pilar jembatan, insulasi listrik yang terbuat dari plastik serta bahan-bahan organik lainnya (Pleczar dan Chan, 1988).

Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri, merusak keutuhan dinding sel, menghambat sintesis protein sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel bakteri (Pelczar,



Menurut Madigan, dkk (2008), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antibakteri mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan bakteri yaitu:

- a. Bakteriostatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakterostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur bakteri yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antibakteri pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.
- b. Bakteriosidal memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur bakteri yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antibakteri pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.
- c. Bakteriolitik menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antibakteri. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur bakteri yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antibakteri pada fase logaritmik, jumlah sel total maupun jumlah sel hidup menurun.



Daya antibakteri diukur secara *in vitro* dengan metode erlen dan metode difusi. Metode difusi dilakukan dengan

mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Jawetz, 2001).

Schunack, dkk (1990) membedakan bakteri berdasarkan morfologi dan pemanfaatan kemoterapi menjadi dua, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Kedua bakteri dapat dibedakan berdasarkan pewarnaan Gram. Warna ungu menandakan bakteri Gram positif dan warna merah menandakan Gram negatif. Bakteri yang sering menyebabkan penyakit yang menginfeksi manusia diantaranya *Staphylococcus aureus* yang tergolong bakteri Gram positif dan *Eschericia coli* tergolong bakteri Gram negatif (Pleczar dan Chan, 1988).

E. Uraian Tentang Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga mampu menetralsir peningkatan radikal bebas, melindungi sel dari efek toksik yang dihasilkan serta berkontribusi dalam pencegahan penyakit-penyakit (Winarsih H., 2007).

Antioksidan dapat membantu melindungi tubuh manusia melawan kerusakan yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif (ROS; *Reactive Oxygen Species*) dan radikal bebas lainnya. Selain itu, antioksidan

memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, kecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan,



memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi (Winarsi, 2007; Hanani, dkk., 2005).

Secara alami sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, telah ada didalam tubuh. Akan tetapi kemampuan untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh ada batasnya. Sebagai contoh, tubuh manusia dapat menghasilkan *glutathione*, salah satu antioksidan yang sangat kuat. Namun, untuk memicu tubuh menghasilkan *glutathione*, tubuh memerlukan asupan vitamin C sebesar 1.000 mg (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Tubuh manusia memiliki sistem oksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif ini melebihi jumlah oksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stres oksidatif. Namun demikian, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat melalui tiga cara, yaitu (1) mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru, (2) menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai), (3) memperbaiki (*repair*) kerusakan oleh radikal (Winarsi, 2007).



Antioksidan dapat berupa enzim (seperti katalase dan glutathionase), vitamin (vitamin E, C, A, dan β -karoten), dan senyawa lain

(flavonoid, albumin, bilirubin dan seruloplasmin). Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama (primer) terhadap kondisi stres oksidatif. Disamping antioksidan yang bersifat enzimatis, ada juga antioksidan non-enzimatis yang dapat berupa senyawa nutrisi maupun non nutrisi. Kedua kelompok antioksidan non-enzimatis ini disebut antioksidan sekunder karena dapat diperoleh dari asupan bahan makanan, seperti vitamin C, E, A, dan β -karoten. Glutation, asam urat, bilirubin, albumin, dan flavonoid juga termasuk dalam kelompok ini. Senyawa tersebut berfungsi menangkap senyawa oksidan serta mencegah terjadinya reaksi berantai (Winarsi, 2007).

Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi (Sayuti dan Yenrina, 2015; Winarti, 2010).

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 (empat) macam mekanisme reaksi menurut (Sayuti dan Yenrina, 2015), yaitu:

- a. pelepasan hidrogen dari antioksidan
- b. pelepasan elektron dari antioksidan
- c. adisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan.

...membentuk senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari
...oksidan.



Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah juga *chain breaking antioxidant*. Sedangkan mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang terkandung didalam antioksidan alami ini adalah vitamin C, vitamin E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, isokatekin, asam lipoat, bilirubin dan albumin, likopen dan klorofil (Winarsi, 2007).

Metode pengujian aktivitas antioksidan yang paling umum digunakan adalah dengan menggunakan *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil. Menurut Nishizawa dkk (2005) bahwa DPPH telah diketahui manfaatnya sebagai penentuan aktivitas antioksidan untuk menguji aktivitas antioksidan radikal dari vitamin yang bersifat antioksidatif dan komponen aromatik polihidroksil (Sayuti dan Yenrina, 2015).



DPPH merupakan radikal bebas stabil berwarna ungu yang
an secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal

bebas dari beberapa komponen alam seperti komponen fenolik. Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti transfer hidrogen sekaligus juga untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas dengan reaksi pada persamaan 1:



Metode DPPH merupakan pengukuran antioksidan yang memiliki keunggulan dibandingkan metode lain yaitu sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50 %. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Menurut (Blois, 1958) dalam Hanani, dkk., 2005; Molyneux, 2004). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning.

Menurut Andayani (2008), Persentase hambatan radikal bebas dapat ditentukan dengan rumus pada persamaan 2:



$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol}) - (\text{Absorbansi Sampel})}{(\text{Absorbansi kontrol})} \times 100 \% \quad (2)$$

Keterangan:

- *Abs. Kontrol: serapan radikal DPPH*
- *Abs. Sampel: serapan sampel dalam radikal DPPH*

Nilai konsentrasi efektif merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (mikrogram/mililiter) yang mampu menghambat 50% oksidasi (Tristantini, dkk., 2017). Tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ terlihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Ciptaningsih, 2012)

Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat aktif	, 50 ppm
Aktif	50-100 ppm
Sedang	101-250 ppm
Lemah	250-500 ppm



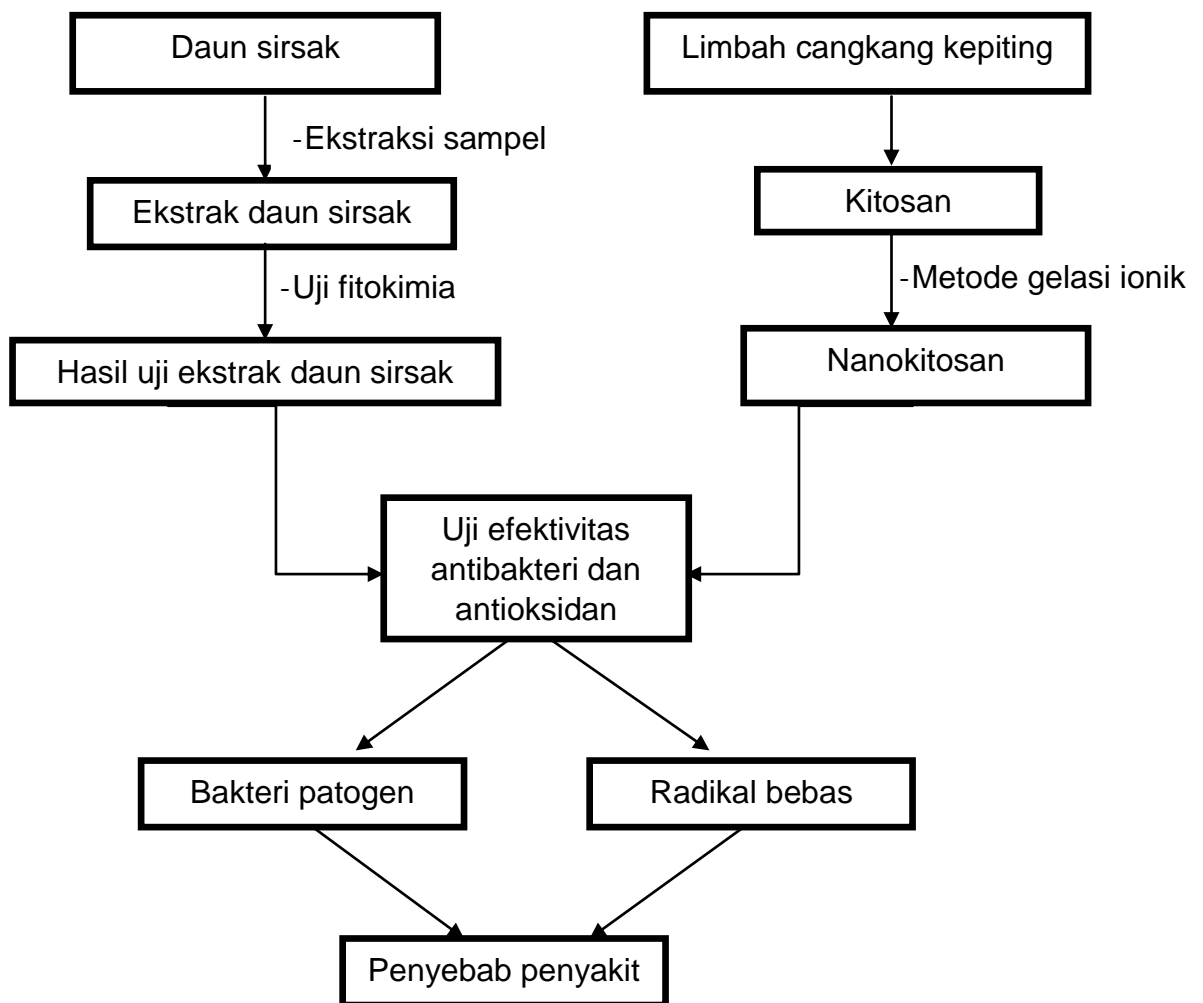
F. Kerangka Konseptual

Sirsak (*A.muricata L.*) merupakan salah satu tanaman spsies family *Annonaceae* yang telah lama dimanfaatkan bagi kesehatan di tanah air dan di berbagai Negara, baik yang diperoleh dari daging buah, daun maupun bijinya. Daun sirsak mengandung senyawa asetogenin yang memiliki banyak manfaat yaitu sebagai antikanker, antitumor, anti-inflamasi, antidepresi, antivirus, antibakteri dan antioksidan. Ekstrak etanol, methanol, etil-asetat dan n-heksan daun sirsak ditemukan bersifat aktif terhadap bakteri dan jamur seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*. Selain itu, ekstrak etanol, air dan n-heksana dari daun sirsak juga menunjukkan sifat antioksidan dengan membersihkan radikal DPPH, sehingga dapat berperan sebagai penangkal utama radikal bebas, oksidasi asam nukleat, protein, lemak, dan DNA dengan cara mengikat radikal bebas atau molekul reaktif lainnya.

Selain daun sirsak yang memiliki efektivitas antioksidan dan antibakteri yang potensial, penelitian lainnya yang mengalami perkembangan sebagai sumber antioksidan dan antibakteri adalah kitosan. Kitosan adalah suatu polisakarida yang diperoleh dari hasil deasetilasi kitin, yang umumnya berasal dari limbah kulit hewan. Aplikasi kitosan yang diterapkan dalam berbagai bidang modern mendorong para peneliti dan praktisi industri untuk terus mengembangkannya dalam berbagai penelitian, termasuk melakukan



modifikasi kitosan mencakup perubahan ukuran partikel ke bentuk nano-partikel. Nano-partikel kitosan mempunyai keunggulan antara lain meningkatkan kelarutan senyawa atau zat aktif kitosan, mengurangi dosis pengobatan dan meningkatkan absorpsi obat dari kitosan.



Gambar 5. Kerangka konseptual



G. Hipotesis

Berdasarkan beberapa hal yang telah diuraikan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) memiliki senyawa metabolit sekunder yang efektif sebagai antibakteri dan antioksidan.
2. Karakteristik nanokitosan yang diperoleh berupa serbuk halus putih kekuningan dengan ukuran partikel kurang dari 100 nm.
3. Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dan nanokitosan memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan.
4. Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) yang difortifikasi nanokitosan memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan.

