

**PENGARUH POSISI DAUN PADA TANAMAN SIRSAK  
(*Annona muricata* Linn.) TERHADAP KOMPOSISI  
KANDUNGAN KIMIA DAN AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI SECARA  
IN VITRO**

*EFFECT OF SOURSOP (*Annona muricata* Linn.) LEAVES  
POSITION TOWARD CHEMICAL CONTENT AND  
IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY*

**RESKI YALATRI WIRASTUTY**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2019**



**PENGARUH POSISI DAUN PADA TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata*  
Linn.) TERHADAP KOMPOSISI KANDUNGAN KIMIA DAN AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

RESKI YALATRI WIRASTUTY

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2019**

**TESIS**

ii



## TESIS

### **PENGARUH POSISI DAUN PADA TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata* Linn.) TERHADAP KOMPOSISI KANDUNGAN KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO**

Disusun dan diajukan oleh :

**RESKI YALATRI WIRASTUTY**  
**Nomor Pokok P2501216402**

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
pada tanggal 25 Januari 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat



Menyetujui

Komisi Penasehat,

**Subehan, M.Pharm. Sc., Ph.D., Apt**  
Ketua

**Dr. Sartini, M.Si., Apt**  
Anggota

Ketua Program Studi Magister  
Ilmu Farmasi,

Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin,



**Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt**

**Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt**



## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang Bertanda tangan di bawah ini

Nama : Reski Yalatri Wirastuty

Nomor Mahasiswa : P2501216402

Program studi : Magister Farmasi

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

Makassar, Februari 2019

Yang menyatakan

Reski Yalatri Wirastuty



## PRAKATA

Assalamu Alaikum Wr.Wb

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena rahmat dan hidayah-Nyalah, penulis akhirnya dapat menyelesaikan tesis dengan judul: “Pengaruh Posisi Daun Pada Tanaman Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Komposisi Kandungan Kimia dan Aktivitas Antibakteri Secara In Vitro”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW, yang membawa manusia dari alam kegelapan menuju alam yang terang benderang.

Dalam penyusunan tesis ini penulis banyak mengalami hambatan, namun berkat bantuan, bimbingan dan kerjasama yang ikhlas dari berbagai pihak, akhirnya tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Tak lupa saya ucapkan syukur dan banyak terima kasih yang setinggi-tingginya kepada bapak Subehan, S.Si., M.Pharm. Sc., Ph.D., Apt dan Ibu Dr. Sartini, M.Si., Apt selaku komisi penasehat yang telah meluangkan waktunya untuk membagi ilmu, memberikan motivasi, saran, bimbingan serta ide-ide kepada penulis hingga penelitian tesis dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah membantu demi terselesaikannya penyusunan tesis. Terima kasih kepada :



1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Ibu Dr. Latifah Rahman, DESS., Apt selaku Ketua Program Studi Magister Farmasi Universitas Hasanuddin.
3. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt Ibu Dr. Herlina Rante M.Si., Apt dan Ibu Risfah Yulianty, M. Si., Apt selaku Komisi Penguji
4. Bapak/Ibu Dosen beserta seluruh Staf Pegawai Program Studi Farmasi Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
5. Bapak/Ibu Dosen beserta Staf STIKES Nani Hasanuddin Makassar.
6. Teman-teman Magister Farmasi Angkatan 2016 Program Studi Farmasi Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin yang selalu memberikan motivasi hingga terselesainya penelitian ini.
7. Teman—teman BUDI DN 2016 yang telah memberikan masukan, saran dan motivasi.
8. Sahabat seperjuangan Kak Hasma, Asni, Nita, Marwah, Sulfi, Kak Andi, yang telah membantu dan memberikan semangat dan motivasi.
9. Teman-teman sekaligus saudara, Ibu Alima, Kak kiki, Wahyu, Pak Lurah yang telah memberikan motivasi dan semangatnya.
10. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, penulis

akan banyak terimakasih atas setiap bantuan dan doa yang diberikan  
Insha Allah SWT melimpahkan Rahmat-Nya Aamiin.



Pencapaian tugas akhir ini tidak terlepas dari jasa-jasa orang tua penulis. Ungkapan terima kasih yang tulus penulis persembahkan untuk kedua orang tua tercinta Ayahanda Abd. Rasyid dan Ibunda Wiwik Widayanti atas doa yang telah mencurahkan segenap kasih sayang yang tak terbatas serta segala bentuk motivasi yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan sampai di tingkat perguruan tinggi. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya juga penulis ucapkan kepada saudaraku tersayang Risfani Cahyaningrum, Muh. Tri Wirawan dan Muh. Fauzan Wirawan. Terima kasih atas dukungan, motivasi dan kesabaran dalam menghadapi penulis, serta untuk seluruh keluarga besarku yang telah memberikan support dan doa demi kelancaran penelitian ini. Kalian adalah hal terindah dalam hidupku.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan guna melengkapi segala kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan tesis ini. Akhir kata semoga tesis ini memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamu Alaikum Wr. Wb.

Makassar, Februari 2019

Reski Yalatri Wirastuty



## DAFTAR ISI

Halaman	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PENELITIAN	
A. Tanaman Sirsak	6
B. Ekstraksi	10
C. Identifikasi Kandungan Kimia	12
a. Uji Kultur Mikroba Uji	14
b. Uji Kultur Mikroba Uji	17
c. Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)	18





G. Kerangka Pikir Penelitian	23
H. Kerangka Konsep	24
I. Hipotesa Penelitian	24
J. Defenisi Operasional	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
A. Rancangan Penelitian	26
B. Waktu dan Tempat Penelitian	26
C. Alat dan Bahan	26
D. Penyiapan Sampel	27
E. Pengujian Antibakteri	30
F. Metode Pengujian KLT Bioautografi	32
G. HPLC	33
H. Partisi Ekstrak	35
I. Analisis Data	36
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil Ekstraksi Daun Sirsak	37
B. Hasil Penapisan Fitokimia Daun Sirsak	38
C. Hasil KLT Bioautografi	39
D. Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak	41
Profil Kromatogram Ekstrak Etanol Daun Sirsak Pada Panjang gelombang 254 nm	43
Profil Kromatogram Ekstrak Etanol Daun Sirsak Pada Panjang	



Gelombang 366 nm	46
G. Partisi	48
H. Profil Kromatogram Fraksi Etanol Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 254 nm	48
I. Profil Kromatogram Fraksi Ekstrak Etanol Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 366 nm	51
J. Hasil Pengujian Antibakteri Hasil Partisi Ekstrak Pucuk Daun Sirsak	54
BAB V PENUTUP	
A. Kesimpulan	58
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Daun Sirsak	35
Tabel 2. Hasil Perhitungan Nilai Rf Pada Fraksi Kloroform	37
Tabel 3. Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak	39
Tabel 4. Hasil Perbandingan Waktu Retensi dan Luas Area Ekstrak Etanol Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> Linn.) Pada Panjang Gelombang 254 nm	43
Tabel 5. Hasil Perbandingan Waktu Retensi dan Luas Area Ekstrak Etanol Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> Linn.) Pada Panjang Gelombang 366 nm	46
Tabel 6. Hasil Partisi Ekstrak Pucuk Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> Linn.)	48
Tabel 7. Hasil Perbandingan Waktu Retensi dan Luas Area Fraksi Ekstrak Etanol Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> Linn.) Pada Panjang Gelombang 254 nm	50
Tabel 8. Hasil Perbandingan Waktu Retensi dan Luas Area Fraksi Ekstrak Etanol Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> Linn.) Pada Panjang Gelombang 366 nm	53
Tabel 9. Hasil Pengujian Antibakteri Hasil Partisi Ekstrak Etanol Pucuk Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> Linn.)	55



## DAFTAR GAMBAR

1. Tanaman Sirsak ( <i>Annona muricata</i> Linn.)	5
2. Diagram Blok HPLC	18
3. Hasil KLT Fraksi Kloroform, Fase Diam GF 254 dan Fase Gerak Etil Asetat:n-hexan (3:1). (A) Hasil Elusi KLT pada Panjang Gelombang 254 nm (B) Hasil Elusi KLT Pada Panjang Gelombang 366 nm (C) Penyemprotan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10%	37
4. Hasil Pengujian KLT Bioautografi Fraksi Kloroform Pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (A) dan Pada Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (B)	38
5. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Terhadap (A) Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan (B) Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	39
6. Profil Kromatogram Ekstrak Etanol Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 254 nm (A) Pucuk, (B) Tengah, (C) Pangkal	42
7. Profil Kromatogram Ekstrak Etanol Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 366 nm (A) Pucuk, (B) Tengah dan (C) Pangkal	45
8. Profil Kromatogram Fraksi Etanol Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 254 nm (A) n-Hexana. (B) Kloroform, (C) Etil Asetat, (D) Air	49
9. Profil Kromatogram Fraksi Etanol Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 366 nm (A) n-Hexana. (B) Kloroform, (C) Etil Asetat, (D) Air	52
10. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Pucuk Daun Sirsak Terhadap (A) Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan (B) Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	55



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Skema Kerja Penelitian	64
Lampiran 2: Skema Kerja Aktivitas Antibakteri	65
Lampiran 3: Skema kerja pengujian KLT Bioautografi	66
Lampiran 4: Skema Kerja Partisi Ekstrak aktif	67
Lampiran 5: Tanaman Sirsak	68
Lampiran 6. Gambar Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak	69
Lampiran 7. Hasil Profil Kromatogram Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 254 nm	70
Lampiran 8. Hasil Profil Kromatogram Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 366 nm	73
Lampiran 9. Hasil Profil Kromatogram Fraksi Etanol Ekstrak Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 254 nm	76
Lampiran 10. Hasil Profil Kromatogram Fraksi Etanol Ekstrak Daun Sirsak Pada Panjang Gelombang 366 nm	80
Lampiran 11. Data hasil uji statistik ekstrak etanol daun sirsak terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84
Lampiran 12. Data hasil uji statistik ekstrak etanol daun sirsak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	87



## DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Keterangan
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
NA	<i>Nutrien Agar</i>
DMSO	Dimetil Sulfoksida
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
UFLC	<i>Ultra Fast Liquid Chromatography</i>
KHM	Kadar Hambat Minimal



## ABSTRAK

RESKI YALATRI WIRASTUTY. Pengaruh Posisi Daun Pada Tanaman Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Kandungan Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Secara In Vitro. (dibimbing oleh Subehan dan Sartini).

Daun Sirsak merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui 1) pengaruh posisi daun sirsak terhadap kandungan kimia dan aktivitas antibakteri, 2) fraksi ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Masing-masing bagian daun sirsak dimaserasi menggunakan etanol 70% perbandingan 1:7 kemudian dilanjutkan pengujian klt bioautografi, pengujian antibakteri, analisis kualitatif menggunakan UFLC dan partisi aktivitas antibakteri yang paling baik. Aktivitas antibakteri menggunakan metode *Disc Diffusion Kirby-Bauer* dengan medium MHA dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak sirsak yang paling baik aktivitas antibakteri terdapat pada bagian pucuk yang memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 12,73 mm dan *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 11,83 mm. Fraksi yang memiliki aktivitas antiibakteri adalah fraksi kloroform dengan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 13,06 mm dan *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 15,55 mm.

Kata Kunci: Sirsak (*Annona muricata* Linn.), Aktivitas antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*



## ABSTRACT

RESKI YALATRI WIRASTUTY. Effect Of The Soursop (*Annona muricata* Linn.) Leaves Position Toward Chemical Content and In Vitro Antibacterial Activity (guided by Subehan and Sartini).

Soursop (*Annona muricata* Linn.) is one of the plants that has antibacterial activity. This study aims to determine: 1. Influence on the position of the soursop leaves on the chemical composition and antibacterial activity, 2. fraction of the ethanol extract of the soursop leaves has good antibacterial activity. Each part of soursop leaves was macerated using 70% ethanol. Then antibacterial testing extract and patrtision with method disc diffusion Kirby-Bauer and qualitative analysis *Ultra Fast Liquid Chromatography* (UFLC). The activity of antibacterial using disc diffusion *Kirby-Bauer* method which use of medium *Mueller Hilton Agar* (MHA) with 24 hours incubation time at 37°C of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The results showed that the extract of shoots had the best antibacteria activity against and *Pseudomonas aeruginosa* with diameter inhibitory zone were 12.7 mm and 11.83 mm repectively. The fraction having anti-bacterial activity was the chloroform fraction with diameter inhibitory zone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were 13.06 mm and 15.55 mm respectively.

Keywords: Soursop (*Annona muricata* Linn.), Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*





# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

Pencarian obat dan suplemen makanan yang bersumber dari tanaman sangat meningkat pesat dalam beberapa tahun terakhir ini. Penggunaan obat tradisional dalam hal proses penyembuhan dengan menggunakan tanaman digunakan untuk mencegah atau mengobati kondisi menular. Tanaman obat kaya akan berbagai senyawa metabolit sekunder seperti tannin, terpenoid, alkaloid dan flavonoid ditemukan secara *in vitro* memiliki sifat antimikroba (Cowan, 1999).

Pencarian antimikroba dari tanaman sampai saat ini masih terus dilakukan karena banyaknya obat-obat antibiotika yang mengalami resistensi. Peningkatan resistensi antibiotika telah banyak dilaporkan, salah satunya *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotika golongan penisilin. Prevalensi infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 233 isolat (9,43%) (Muttaqien & Soleha, 2014). Angka kejadian infeksi nosokomial di dunia yang disebabkan oleh bakteri *P.aeruginosa* sekitar 10-15% dan sekitar 10-20%

di unit perawatan intensif (ICU), biasanya terjadi pada pasien sepsis, luka bakar, dan infeksi luka (Rustini *et al.*, 2016). Penggunaan *Staphylococcus aureus* karena semakin banyak peningkatan



resistensi bakteri terhadap antibiotika. Sedangkan penggunaan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan penyebab pernafasan, lokasi operasi dan infeksi saluran kemih pada pasien dari area perawatan intensif (Landman *et al.*, 2007).

Salah satu tanaman yang menunjukkan aktivitas antimikroba adalah sirsak (*Annona muricata* Linn.). Pada daun sirsak terdapat senyawa acetogenins (Foong & Hamid, 2012),  $\beta$ -caryophyllene (13.6%),  $\delta$ -cadinene (9.1%), epi- $\alpha$ -cadinol (8.4%),  $\alpha$ -cadinol (8.3%) (Kossouh *et al.*, 2007), Bicyclogermacrene (39,8%) (Siqueira *et al.*, 2011), annomuricine dan muricapentocin (Kim *et al.*, 1998), hexadecanoic acid ( $C_{17}H_{34}O_2$ ), and methyl ester of 9-octadecenoic acid (Z) ( $C_{19}H_{36}O_2$ ) (Abubacker & Deepalakshmi, 2013), Genticid acid (Taylor, 2002).

Dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 128 mg/ml (Bussmann *et al.*, 2010). Ekstrak etanol 95% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) (Taylor, 2002). Ekstrak air memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aureus* (Taylor, 2002). Fraksi etil asetat daun sirsak memiliki

antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar  $29.3 \pm 1.5$  mm  
*Pseudomonas aureus* sebesar  $27.6 \pm 1.2$  mm (Oyedejia *et al.*, 2015).  
 metanol daun sirsak mempunyai Kadar Hambat Minimal (KHM)



terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 156 µg/mL dan *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 625 µg/mL (de CC Pinto *et al.*, 2017). Ekstrak etanol daun sirsak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 18 mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 18 mm (Vijayameena *et al.*, 2013).

Efek farmakologi suatu tanaman obat tergantung pada senyawa kimia yang terkandung di dalam tanaman tersebut. Sementara, kandungan senyawa kimia dalam tanaman dipengaruhi oleh faktor genetik, kondisi lingkungan (tempat tumbuh, iklim), perlakuan selama masa tumbuh, kondisi (umur dan cara panen) (Setyorini *et al.*, 2016). Jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya, beberapa peneliti menggunakan berbagai jenis pelarut diantaranya metanol, n-Heksan dan air. Namun dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Dimana Asam gentisat merupakan senyawa hydroquinone yang dapat larut dalam etanol (Li, X *et al.*, 2006)

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti tertarik ingin melakukan penelitian tentang pengaruh posisi daun pada tanaman sirsak terhadap komposisi kandungan kimia dan aktivitas antibakteri secara in vitro. Dimana bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* mewakili bakteri gram positif dan *Pseudomonas aeruginosa* mewakili bakteri gram



## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka permasalahan yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ada pengaruh letak posisi daun sirsak terhadap komposisi kimia dan aktivitas antibakteri?
2. Fraksi manakah dari ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri yang baik?

## C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Untuk mengetahui pengaruh letak posisi daun sirsak terhadap komposisi kimia dan aktivitas antibakteri.
2. Untuk mengetahui fraksi mana dari ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri yang baik.

## D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat berguna untuk memberikan informasi ilmiah tentang posisi daun sirsak yang paling efektif digunakan sebagai

eri.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tanaman Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

##### 1. Klasifikasi Tanaman

Tanaman sirsak diklasifikasikan sebagai berikut : (Sunarjono, 2005)

- Regnum : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Ranales  
Famili : Annonaceae  
Genus : Annona  
Spesies : *Annona muricata* Linn.



Gambar 1. Tanaman sirsak (*Annona muricata* Linn.)  
(de CC Pinto *et al.*, 2017)



## 2. Nama daerah daun sirsak

Sumatra : Deurouyan Belanda (Aceh), Tarutung olanda (Batak), Durian Batawi (Minangkabau), Jambu Landa (Lampung). Jawa : Nangkawalanda (Sunda), Srikaya Welandi (Jawa), Nangka Moris (Madura). Bali : Srikaya Jawa. Nusatenggara : Nakat (Flores). Sulawesi : Mangka Walanda (Sulut), Sirikaya Balanda (Makassar), Sirikaya Balanda (Bugis). Maluku: Anad Walanda (Seram), Naka Luanda (Buru), Durian (Halmahera), Naka Walanda (Ternate), Naka Lada (Tidore) (Depkes RI, 1989).

## 3. Morfologi daun sirsak

Daun sirsak berbentuk bulat panjang dengan ujung lancip pendek berukuran (8-16) cm x (3x7 cm). Tangkai daun panjangnya 3-7 mm. Daun tuanya berwarna hijau tua sedangkan daun muda berwarna hijau kekuningan. Daun sirsak tebal dan agak kaku dengan urat daun menyirip atau tegak pada urat daun utama. Aroma yang ditimbulkan daunnya terkadang menimbulkan bau yang tidak sedap (Mardiana, L., & Ratnasari, J, 2011).

## 4. Kandungan daun sirsak

Senyawa yang terdapat dalam sirsak diantaranya: annocatalin, annohexocin, annomonacin, annomontacin, annomuricatin A and B, ricin A through E, annomutacin, annonacin, annonacinone, tacin A sampai C, cis-annonacin, ciscorrossolone, cohibin A sampai



D, corepoxylone, coronin, corossolin, corossolone, donhexocin, epomuricenin A dan B, gigantetrocin, gigantetrocin A dan B, gigantetrocinone, gigantetronenin, goniiothalamycin, iso-annonacin, javoricin, montanacin, montecristin, muracin A sampai G, muricapentocin, muricatalicin, muricatalin, muri-catenol, muricatetrocin A and B muricatin D, muricatocin A sampai C muricin H, muricin I, muricoreacin, murihexocin 3, murihexocin A sampai C, murihexol, murisolin, robustocin, rolliniastatin 1 & 2, saba-delin, solamin, uvariamicin I dan IV dan xylomaticin (TDRG (*Technical Data Report on Graviola*), 2002)

Daun sirsak mengandung senyawa acetogenin, annocatacin, annocatalin, annohexocin, annonacin, annomuricin, anomurine, anonol, caclourine, gentisic acid, gigantetronin, asam linoleat dan muricapentocin (Kurniasih *et a.*, 2015). Ekstrak etanol daun sirsak mengandung Annonacin, annonacin A and. muricin (Jaramillo, M. C., Arango, G. J., Gonzalez, M. C., Robledo, S. M., & Velez, I. D., 2000).

Daun sirsak mengandung mineral seperti: potasium (363,05 mg/kg), kalsium (11,183.50mg/kg), sodium (694.86 mg/kg), magnesium (9,619 mg/kg), zat besi (139,50 mg/kg), seng (8.34mg/kg), mangan (8.25.00mg/kg), kromium (3,75 mg/kg), tembaga (14,25 mg/kg) dan kadmium (5,49 mg/kg)

hena & Paulinus, 2016.)



## 5. Kegunaan Sirsak

Daun sirsak dapat digunakan sebagai antiinflamasi dan antirematik (Foong & Hamid, 2012), memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker baru yang menjanjikan (Gavamukulya *et al.*, 2014), memiliki aktivitas antihiperglikemik (Adeyem *et al.*, 2009), memiliki aktivitas antinociceptive dan anti-inflamasi (De Sousa *et al.*, 2010), memiliki efek antinociceptive dan menunjukkan efek antiulcerogeniknya (Hamid *et al.*, 2012), mampu menekan inisiasi tumor serta bahkan promosi tumor (Hamizah *et al.*, 2012), memiliki efek antibakteri dari ekstrak metanol dan air dari terhadap berbagai bakteri (Gajalakshmi, S., Vijayalakshmi, S., & Devi Rajeswari, V., 2012).

### B. Ekstraksi

#### A. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan bahan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi tanaman obat merupakan proses pemisahan secara kimia maupun fisika suatu atau sejumlah bahan padat atau cair dari suatu padatan (Agoes, 2007).

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dengan campurannya menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan mencapai kesetimbangan antara konsentrasi suatu senyawa dalam





pelarut dengan konsentrasi pada sel tanaman. Setelah proses ekstraksi dilakukan maka pelarut dipisahkan dari sampel melalui penyaringan. (Tetti, 2014).

## **B. Maserasi**

Maserasi merupakan salah satu jenis ekstraksi padat cair paling sederhana. Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel. Sampel direndam selama 3-5 hari sambil diaduk sesekali yang bertujuan untuk mempercepat proses pelarutan analit. Ekstraksi dilakukan hingga berulang kali hingga terestraksi sempurna. Kelebihan metode maserasi adalah alat dan cara yang digunakan sangat sederhana, dapat digunakan untuk analit baik yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan. Adapun kelemahannya adalah menggunakan banyak pelarut (Maria Aloisia Uron Leba, 2017)

Maserasi merupakan penyarian simplisia menggunakan bermacam pelarut pada suhu kamar selama beberapa waktu. Pada proses ini sangat menguntungkan dalam hal isolasi senyawa bahan alam karena dengan adanya perendaman sampel tumbuhan maka akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel sehingga terjadi perbedaan tekanan antara didalam sel yang mengakibatkan metabolit sekunder yang terdapat pada sel akan terlarut dalam pelarut organik tersebut.



Untuk memilih pelarut pada proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi karena dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pada pelarut tersebut.

### C. Identifikasi Kandungan Kimia

#### a. Senyawa Alkaloid

Metode yang cukup dikenal adalah metode identifikasi pandahuluan Culvenor Fitzgerald yaitu 4 gram sampel dipotong halus, digerus dengan lumpang dengan bantuan pasir yang bersih dan dibasahi dengan 10 ml kloroform. ditambah dengan kloroform amoniak 0,05 M, digerus kembali dan disaring kedalam tabung reaksi, ditambah 0,5 ml asam sulfat 2 N, kocok dan biarkan terjadi dua lapisan. Ambil lapisan asam sulfat dan masukkan kedalam tabung` reaksi dan kemudian tambahkan satu tetes pereaksi meyer. Terbentuknya endapan putih menandakan positif alkaloid.

#### b. Senyawa Terpenoid, steroid, fenolik, flavonoid dan saponin

4 gram sampel segar dirajang halus dan dididihkan dengan 25 ml etanol selama lebih kurang 25 menit, disaring dalam keadaan panas, kemudian pelarut diuapkan sampai kering. Ekstrak dikocok kuat dengan kloroform lalu

nkkan air suling, biarkan sampai terbentuk dua lapisan.

n kloroform diteteskan pada plat tetes dan biarkan kering, tambahkan apa tetes asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi



Liebermann Burchard). Terbentuknya warna merah atau pink menandakan positif untuk senyawa terpenoid dan terbentuknya warna biru atau hijau positif untuk steroid.

- Lapisan air

1 ml lapisan air dikocok selama satu menit, terbentuknya busa yang tidak hilang selama 5 menit menandakan adanya saponin. Kemudian beberapa tetes ditempatkan dalam tabung reaksi ditambahkan besi (III) klorida, timbul warna hijau sampai ungu menandakan positif fenolik. Beberapa tetes ditempatkan dalam tabung reaksi, ditambahkan asam klorida pekat dan serbuk magnesium dan timbulnya warna merah menunjukkan adanya flavonoid (Lenny, Sofia. 2006).

#### D. Uraian Mikroba uji

1. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus*: (Priyanto, 2016)

Kingdom : Bakteria  
 Filum : Firmicutes  
 Kelas : Cocci  
 Ordo : Bacillales  
 : Staphylococcaceae  
 : Staphylococcus  
 : *Staphylococcus aureus*



*Staphylococcus aureus* termasuk kedalam famili Micrococcaceae. Bakteri ini berbentuk bulat. Pada koloni mikroskopik *Staphylococcus aureus* cenderung berbentuk menyerupai buah anggur. Menurut bahasa Yunani, *Staphyle* berarti anggur dan *coccus* berarti bulat atau bola. Salah satu spesies menghasilkan pigmen yang berwarna kuning emas sehingga dinamakan *aureus* (berarti emas, seperti matahari). Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen (Maksum Radji *et al.*, 2013).

*Staphylococcus aureus* membentuk koloni besar yang berwarna agak kuning dalam media yang baik. *Staphylococcus aureus* memiliki sifat fakultatif dan dapat tumbuh karena dapat melakukan respirasi aerob atau fermentasi dengan menghasilkan asam laktat. *Staphylococcus aureus* dapat hidup pada suhu 15°- 45° C dan pada NaCl berkonsentrasi 15% (Maksum Radji *et al.*, 2013).

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab penyakit pada manusia. Pada keadaan normal, *Staphylococcus aureus* terdapat di saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna dan vagina. Pada orang yang sehat, dapat menyebarkan *Staphylococcus aureus* ke kulit maupun pakaiannya sendiri dengan cara bersin atau dengan tangan yang terkontaminasi. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen.

ch, 1999).



## 2. *Pseudomonas aeruginosa*

Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa*: (Priyanto, 2016)

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negative yang termasuk kedalam family Pseudomonadaceae. Lebih dari sepuluh bakteri ini menghasilkan pigmen biru hijau pyocyanin. *Pseudomonas* memiliki karakteristik bau yang manis (Priyanto, 2016).

*Pseudomonas* merupakan bakteri gram negatif aerob obligat, berkapsul yang mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil, berukuran sekitar 0,5-1,0  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini tidak menghasilkan spora dan tidak dapat menfermentasikan karbohidrat (Priyanto, 2016).

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan oportunistik gram negative patogen yang dapat menyebabkan infeksi parah terhadap pasien rawat inap, lanjut usia, dan immunocompromised (Colmer & Hamood, 2001).

*Pseudomonas* tidak tumbuh pada kulit kering, tetapi tumbuh pada kulit lembab, green nail syndrome merupakan infeksi pada kuku yang dapat



terjadi pada pasien dengan tangan yang sering terendam air, infeksi sekunder oleh bakteri ini juga dapat terjadi pada pasien dengan dermatitis, tinea pedis, infeksi ini memiliki karakteristik eksudat berwarna biru-hijau dengan bau seperti aseton (Priyanto, 2016).

*Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan beberapa penyakit infeksi seperti dermatitis, otitis eksterna, folikulitis, infeksi pada mata, dan infeksi pada luka bakar. Selain dapat menyebabkan infeksi pada kulit, mata atau telinga, *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menyebabkan infeksi pada saluran nafas bagian bawah, saluran kemih dan organ lain (Radji, 2011).

## E. Aktivitas Antibakteri

### 1. Metode difusi

*Disk-diffusion method* atau *Kirby-Bauer test*, dibagi tiga yaitu metode menggunakan cakram, metode menggunakan silinder dan metode lubang/sumuran. Disk uji diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji, diinkubasikan dan diamati terbentuknya zona hambatan. Tes ini dapat mendeterminasi sensitivitas bahan uji dan estimasi konsentrasi hambat minimum, yaitu konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara visual.

(Sari Dwi Latifah, et al. 2018).



ode dilusi

Prinsipnya adalah seri pengenceran konsentrasi bahan uji. Dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum suatu bahan uji. Diinokulasi suatu seri pengenceran bahan uji dalam tabung berisi media cair dan diinokulasi dengan bakteri uji lalu diamati tingkat kekeruhan/pertumbuhan. Pengenceran tertinggi dari media cair yang jernih dinyatakan sebagai konsentrasi hambat minimum, sedangkan tabung yang jernih diinokulasi goresan pada media *plate agar*, diinkubasi dan diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni pada permukaan media *plate agar*. Pengenceran tertinggi dari tabung yang jernih sebagai konsentrasi bunuh minimum (Sari, Dwi Latifah, *et al.* 2018).

## F. KLT Bioautografi

Bioautografi termasuk metode skrining mikrobiologis yang umumnya digunakan untuk mendeteksi aktivitas antimikroba. Prosedur dalam metode bioautografis mirip dengan prosedur yang digunakan pada metode difusi agar. Bedanya adalah yang teruji senyawa berdifusi ke media agar dan diokulasi dari kromatografi lapisan, yang merupakan adsorben atau kertas. Dalam kontak bioautografi, pelat KLT atau kromatogram kertas ditempatkan pada permukaan agar diinokulasi selama beberapa menit atau jam untuk memungkinkan difusi. Kemudian lempeng dilepas dan lapisan agar diokulasi. Zona pertumbuhan penghambatan muncul pada tempat, dimana



senyawa antimikroba bersentuhan dengan lapisan agar-agar. Dalam biofarmasi immersion (*agar-overlay*), piringnya direndam atau ditutup dengan media agar, yang telah dipadatkan diunggulkan dengan mikroorganisme yang diuji dan kemudian diinkubasi. Untuk memungkinkan difusi yang lebih baik dari senyawa yang diuji ke permukaan agar-agar, piring bisa tetap pada suhu rendah selama beberapa jam sebelum inkubasi. Metode ini merupakan kombinasi kontak dan biotografi langsung, karena antimikroba Senyawa dipindahkan dari kromatogram ke agar-agar sedang, seperti pada metode kontak, namun lapisan agar tetap menempel permukaan kromatogram selama inkubasi dan visualisasi, seperti dalam bioautografi langsung (Choma & Grzelak 2011). Di antara semua metode bioautografis, yang paling banyak diterapkan bioautografi langsung. Prinsip dari metode ini adalah bahwa pelat TLC yang dikembangkan dicelupkan ke dalam suspensi mikroorganisme tumbuh dalam kaldu yang tepat dan kemudian diinkubasi dalam kelembaban suasana. Permukaan silika pelat KLT ditutupi dengan Media kaldu menjadi sumber nutrisi dan memungkinkan pertumbuhan dari mikroorganisme langsung di atasnya. Namun, di tempat dimana agen antimikroba terlihat, zona penghambatan dari pertumbuhan mikroorganisme terbentuk. Visualisasi ini Zona biasanya dilakukan dengan menggunakan aktivitas dehidrogenase-

ksian (Choma & Grzelak, 2011).





## G. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan metode kromatografi cair yang paling banyak digunakan dalam analisis suatu senyawa karena bersifat kompatibel untuk sebagian besar senyawa terutama untuk senyawa campuran yang mempunyai konsentrasi kecil dan memiliki tekanan uap yang rendah (*nonvolatile*). HPLC adalah suatu sistem pemisahan menggunakan kecepatan dan efisiensi yang tinggi dan didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, pompa bertekanan tinggi dan detector yang sensitive. HPLC dapat menganalisa berbagai sampel secara kuantitatif maupun secara kualitatif, baik dalam bentuk komponen tunggal maupun campuran (Wahid, Rahmat A. Hi, 2014)

HPLC paling sering digunakan untuk penetapan kadar senyawa tertentu, menentukan suatu kadar senyawa aktif obat, proses hasil samping proses sintesis, memurnikan suatu senyawa dalam suatu campuran (Aprina, Hesty Priska *et al*, 2012)

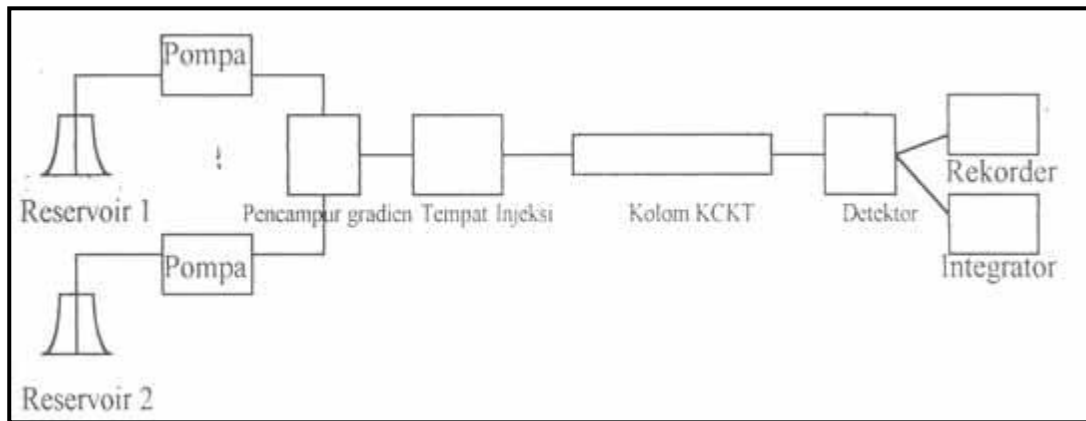
Keuntungan metode HPLC adalah: (Aprina, Hesty Priska *et al*, 2012)

- a. Waktu analisis cepat
- b. Mempunyai daya pisah yang baik dan kolom dapat digunakan kembali
- c. Peka dan mudah memperoleh cuplikan

deal untuk molekul besar dan ion



Komponen-komponen penting dari HPLC dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 2. Diagram Blok HPLC

### 1. Pompa (*Pump*)

Fase gerak dalam HPLC adalah cairan yang bergerak melalui kolom. Ada dua macam tipe pompa, yaitu kinerja konstan (*constant pressure*) dan pemindahan konstan (*constant displacement*). (Putra, Effendy De Lux, 2004).

### 2. Injektor (*injector*)

Sampel yang akan dimasukkan ke dalam bagian ujung kolom, harus dengan distorbansi yang minimum dari material kolom.

Ada tiga tipe dasar injektor yang dapat digunakan :

- a. *Stop-Flow*: Aliran dihentikan, injeksi dilakukan pada kinerja atmosfer, sistem tertutup, dan aliran dilanjutkan lagi. Teknik ini bisa digunakan karena difusi di dalam cairan kecil dan resolusi tidak dipengaruhi



- b. Septum: Septum yang digunakan pada KCKT sama dengan yang digunakan pada Kromatografi Gas. Injektor ini dapat digunakan pada kinerja sampai 60 -70 atmosfer. Tetapi septum ini tidak tahan dengan semua pelarut-pelarut Kromatografi Cair. Partikel kecil dari septum yang terkoyak (akibat jarum injektor) dapat menyebabkan penyumbatan.
- c. *Loop Valve*: Tipe injektor ini umumnya digunakan untuk menginjeksi volume lebih besar dari 10  $\mu$  dan dilakukan dengan cara otomatis (dengan menggunakan adaptor yang sesuai, volume yang lebih kecil dapat diinjeksikan secara manual). Pada posisi LOAD, sampel diisi kedalam loop pada kinerja atmosfer, bila VALVE difungsikan, maka sampel akan masuk ke dalam kolom (Putra, Effendy De Lux, 2004).

### 3. Kolom (*Column*)

Kolom umumnya dibuat dari stainlesssteel dan biasanya dioperasikan pada temperatur kamar, tetapi bisa juga digunakan temperatur lebih tinggi, terutama untuk kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi. Pengepakan kolom tergantung pada model KCKT yang digunakan (*Liquid Solid Chromatography*, LSC; *Liquid Liquid Chromatography*, LLC; *Ion Exchange Chromatography*, IEC, *Exclusion Chromatography*, EC)



Kolom merupakan jantung kromatografi. Berhasil atau gagalnya suatu analisis tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi percobaan yang sesuai. Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok :

- a. Kolom analitik : Diameter dalam 2 -6 mm. Panjang kolom tergantung pada jenis material pengisi kolom. Untuk kemasan pellicular, panjang yang digunakan adalah 50 -100 cm. Untuk kemasan poros mikropartikel, 10 -30 cm. Dewasa ini ada yang 5 cm.
- b. Kolom preparatif: umumnya memiliki diameter 6 mm atau lebih besar dan panjang kolom 25 -100 cm (Putra, Effendy De Lux, 2004).

#### 4. Detektor (*Detector*) .

Detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen suatu sampel di dalam kolom (analisis kualitatif) dan menghitung kadarnya (analisis kuantitatif). Suatu detektor yang baik harus memiliki sensitifitas yang tinggi, gangguan (*noise*) yang rendah, kisar respons linier yang luas, dan memberi respons untuk semua tipe senyawa.

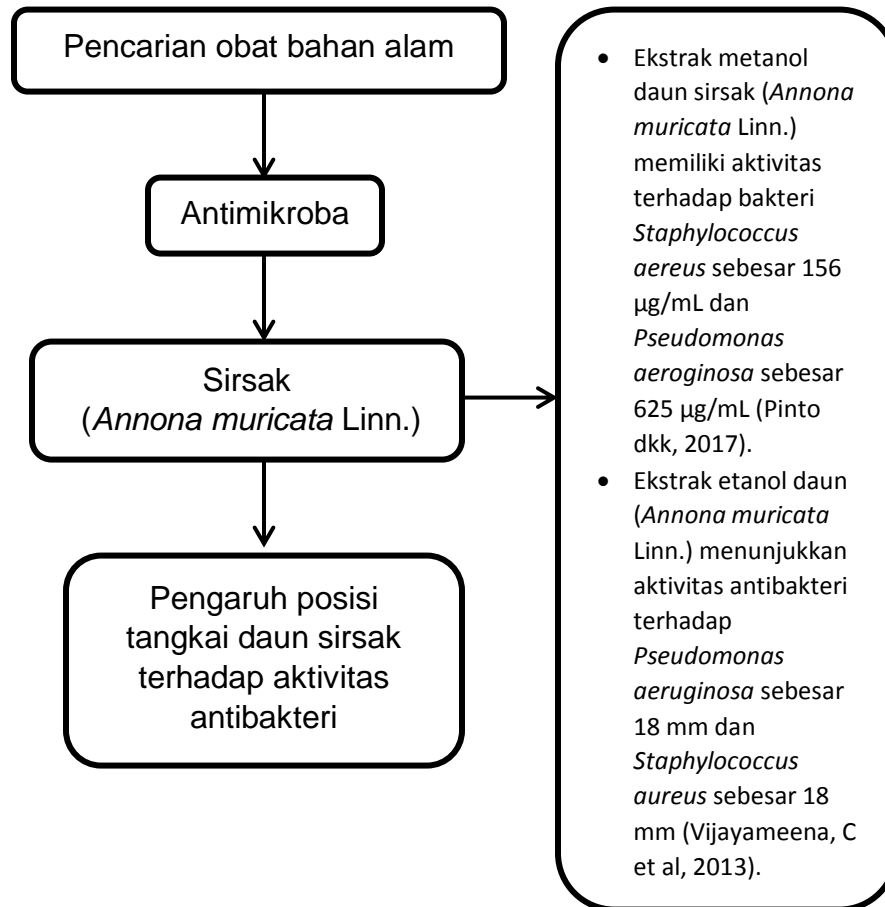
Detektor pada HPLC yang umum digunakan adalah detektor UV 254 nm. Variabel panjang gelombang dapat digunakan untuk mendeteksi banyak senyawa dengan range yang lebih luas. Detektor indeks refraksi juga digunakan secara luas, terutama pada kromatografi eksklusi, tetapi

nyanya kurang sensitif jika dibandingkan dengan detektor UV (Putra, Effendy De Lux, 2004).

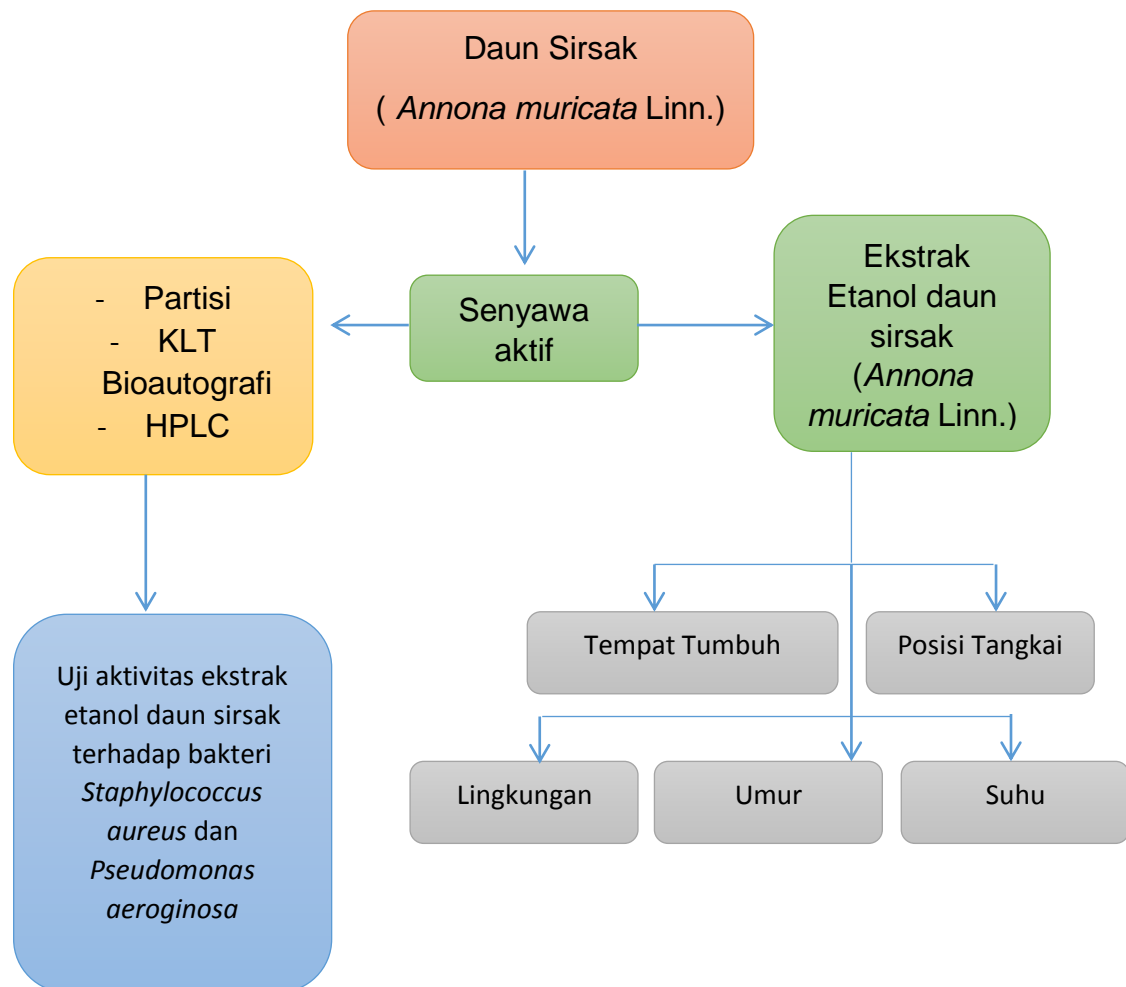


## H. Kerangka Pikir Penelitian

### 1. Kerangka teori



## 2. Kerangka konsep



Keterangan :

- : Variabel Bebas
- : Variabel Antara
- : Variabel Terikat
- : Variabel Kendali



### **I. Hipotesa Penelitian**

1. Terdapat pengaruh letak posisi daun sirsak terhadap komposisi kimia.
2. Terdapat pengaruh letak posisi daun sirsak terhadap aktivitas antibakteri
3. Fraksi dari ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki aktivitas antibakteri yang baik.

### **J. Defenisi Operasional**

1. Daun pucuk adalah daun urutan 1-4 dari pucuk
2. Daun tengah adalah daun urutan 5-7 dan
3. Daun pangkal adalah daun urutan dari 8.

