



ANALISIS SIFAT ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa L*) DENGAN PELARUT ORGANIK

Sabrina Dwie Karunia^{*}, Supartono dan Woro Sumarni

Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024) 8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Pebruari 2017
Disetujui Maret 2017
Dipublikasikan Mei 2017

Kata Kunci:
biji srikaya
antibakteri
S.aureus
E.coli

Abstrak

Biji Srikaya (*Annona squamosa L*) merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri dengan berbagai pelarut organik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstraksi dilakukan dengan metode soxhletasi dengan pelarut n-heksana, kloroform dan etanol. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi ekstrak yang diuji 25, 50, 75 dan 100% dan tanpa ekstrak. Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksana, kloroform dan etanol mengandung alkaloid, flavonoid dan tanin. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana tidak menunjukkan aktivitas penghambatan. Ekstrak kloroform konsentrasi 100% memberikan zona bening terbesar terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan nilai DDH berturut-turut 10 mm dan 9,5 mm. Ekstrak etanol konsentrasi 100% memberikan zona bening terbesar terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan nilai Diameter DDH berturut-turut 10,5 mm dan 17 mm. Analisis senyawa pada ekstrak etanol dengan FT-IR dan GC-MS. Senyawa ekstrak etanol yang diduga berperan sebagai antibakteri adalah ester metil dari asam heksadekanat (metil palmitat)

Abstract

Sugar Apple Seed (*Annona squamosa L*) is a plant with antibacterial activity. The purpose of this research is to know the capacities of antibacterial to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The extraction method was soxhlet with hexanes, chloroform and ethanol then werested with disk technique diffusion method with concentration of hexanes, chloroform, ethanol extract were 25, 50, 75 and 100% and without extract. The results from phytochemical screening of hexanes, chloroform, ethanol extract showed 3 compounds are alcaloids, flavonoids and tanins. The antibacterial activities of hexanes extract did not showed the blocked activities. Chloroform extract by 100% of the concentration give the biggest clear zone where the blocked capacities *S.aureus* is higher than *E.coli*, with zone of inhibition 10 mm and 9.5 respectively. Ethanol extract by 100% of the concentration give the biggest clear zone where the blocked capacities *E.coli* is higher than *S.aureus*, with zone of inhibition 17 mm and 10.5 respectively. The activated compound of ethanol extract had analysze using FT-IR and GC-MS. The compound that assumed as antibacterial are hexadecanoic acid, methyl ester.

Pendahuluan

Dewasa ini, penggunaan antibiotik sangat banyak terutama dalam pengobatan yang berhubungan dengan infeksi, namun kenyataannya masalah infeksi terus berlanjut (Depkes; 2008). Hal ini karena pengobatan dengan antibiotik dapat menyebabkan resistensi sehingga memerlukan produk baru yang memiliki potensi sebagai antibakteri yang dapat mengatasi masalah infeksi (Volk dan Wheeler; 1993).

Srikaya (*Annona squamosa L*) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang terbukti memiliki berbagai khasiat, diantaranya untuk mengobati batuk, demam, rematik, diare dan disentri. Secara umum, semua bagian tanaman dapat dimanfaatkan mulai dari akar, batang, kulit, daun, dan biji. Penelitian yang dilakukan oleh Wandasari, *et al.* (2007), menunjukkan bahwa daun srikaya mengandung alkaloid, glikosida sianogen, flavonoid, fenol, saponin, dan terpenoid.

Penelitian yang dilakukan terhadap larva caplak *Boophilus microplus* menunjukkan bahwa senyawa aktif biji srikaya (annonain dan skuamosin) bersifat racun kontak yang efektif terhadap larva *Boophilus microplus*. Berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak air pada konsentrasi 5% efektif untuk diaplikasikan oleh peternak tradisional di pedesaan karena metodenya mudah dan murah (Wardhana, *et al.*; 2005)

Penelitian lain yang dilakukan oleh Wardhana, *et al.* (2004), menunjukkan bahwa ekstrak heksan biji srikaya mempunyai efek racun cerna terhadap larva lalat *Chrysomya bezziana* pada berbagai perlakuan. Berdasarkan hasil-hasil uji secara *in vitro* membuktikan bahwa ekstrak heksan biji srikaya pada berbagai media pertumbuhan pada larva instar tidak mempunyai efek racun kontak tetapi berpengaruh terhadap saluran pencernaan larva (efek racun cerna). Senyawa aktif yang diduga berkhasiat sebagai penghambat pertumbuhan larva adalah annonain dan skuamosin yang merupakan golongan asetogenin. Namun, sejauh ini belum pernah ditemukan penelitian yang menyatakan tentang sifat antibakteri dari ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa*).

Metode Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya neraca digital, *rotary evaporator*, *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) merek *TQ8030*, spektrofotometer infra merah (FT-IR) merek *Perkin Elmer* dengan model *Frontier*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain biji srikaya yang telah matang, pelarut etanol, pelarut *n*-heksana, pelarut kloroform teknis, HCl, reagen *Dragendorff*, Mg, FeCl₃, CHCl₃, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ dengan *grade pro analyst* buatan *Merck* dan aquades. Media yang digunakan dalam pembiakan bakteri adalah media agar (NA) dan media kaldu (NB). Bakteri uji yang digunakan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang berasal dari Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Tengah.

Penelitian ini diawali dengan ekstraksi biji buah srikaya dengan metode ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut *n*-heksana, kloroform, etanol meliputi beberapa tahapan yaitu preparasi sampel, proses ekstraksi dan proses pemurnian ekstrak dengan *rotary evaporator* pada suhu 55°C dan rotasi 60 rpm. Hasil evaporasi kemudian dianalisa meliputi rendemen, pengujian golongan senyawa aktif yaitu uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid, kemudian diidentifikasi menggunakan FT-IR dan GC-MS.

Metode selanjutnya adalah pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram kertas. Bakteri ditanam dengan memasukkan 1 mL biakan bakteri hasil pengenceran ke NA dan goyangkan cawan petri dengan pola *zig-zag*. *Paper disk* dicelupkan dalam ekstrak biji srikaya pada konsentrasi yang telah ditentukan (100, 75, 50, 25 dan 0%) selama 20 menit agar ekstrak biji srikaya tersebut bisa meresap ke dalam *paper disk* tersebut, kemudian diangin-anginkan lalu diletakkan pada media NA yang telah ditanami bakteri. Seluruh cawan petri yang berisi pembenihan bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar, kemudian diamati dan diukur daerah hambatan pertumbuhan bakteri disekitar *paper disk*, dilanjutkan dengan menghitung luas daerah hambatan/zona beningnya.

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi biji buah srikaya (*Annona squamosa L*) meliputi beberapa tahapan yaitu preparasi sampel, proses ekstraksi dan proses pemurnian ekstrak. Rendemen ekstrak *n*-heksana, kloroform, etanol yaitu 33,43%, 4,21%, dan 7,22%.

Hasil uji golongan senyawa aktif diketahui bahwa serbuk biji srikaya memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid dan tanin. Sedangkan ekstrak *n*-heksana, kloroform, etanol menunjukkan hasil positif alkaloid,

flavonoid, dan tanin.

Tabel 1. Hasil pengamatan uji fitokimia serbuk biji srikaya dan ekstrak biji srikaya

Uji golongan	Serbuk biji srikaya	Ekstrak n-heksana	Ekstrak kloroform	Ekstrak etanol	Perubahan warna yang terjadi
Alkaloid	+	+	+	+	Warna jingga
Flavonoid	-	+	+	+	Warna kuning
Tanin	+	+	+	+	Warna kuning kehijauan
Saponin	-	-	-	-	-
Triterpenoid	-	-	-	-	-
Steroid	-	-	-	-	-

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana, kloroform, etanol dilakukan dua bakteri uji yaitu *S.aureus* dan *E.coli* dengan metode difusi agar dengan teknik cakram kertas. Hasil pengujian yang diperoleh bahwa ekstrak n-heksana dengan konsentrasi 0, 25, 50, 75, 100% tidak menunjukkan aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* dan *E.coli*. Hal ini diketahui dengan tidak adanya diameter daerah hambat yang terlihat di sekeliling cakram kertas. Menurut Dzidic, *et al.* (2008), menyatakan bahwa salah satu mekanisme resistensi bakteri yaitu inaktivasi antibiotik dengan memproduksi enzim. Salah satu enzim yang dapat menginaktivasi antibiotik adalah β -glukoronidase. *S.aureus* merupakan bakteri yang mampu menghasilkan β -glukoronidase sehingga diduga senyawa aktif dalam ekstrak n-heksana dapat diuraikan oleh β -glukoronidase menjadi senyawa lain yang tidak bersifat toksik bagi bakteri. Baiano & Barners (2009), mengatakan tidak adanya hambatan sama sekali terhadap bakteri *E.coli* karena adanya selubung kapsul pada beberapa strain dari *E.coli* yang dapat menyebabkan senyawa aktif ekstrak n-heksana yang bersifat lipofilik tidak dapat berikatan dengan dinding sel.

Sedangkan ekstrak kloroform pada konsentrasi 25, 50, 75, 100% menunjukkan terbentuknya zona bening di sekitar cakram kertas. Diameter daerah hambat pada ekstrak kloroform mengalami kenaikan artinya semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* juga semakin besar. Hal ini disebabkan semakin tinggi kadar senyawa bioaktif maka umumnya bersifat bakterisida (mematikan mikroba) dan kadar yang lebih rendah biasanya hanya bersifat bakteristatik (menghambat pertumbuhan, bukan mematikan mikroba) (Binadja, *et al.*; 2012).

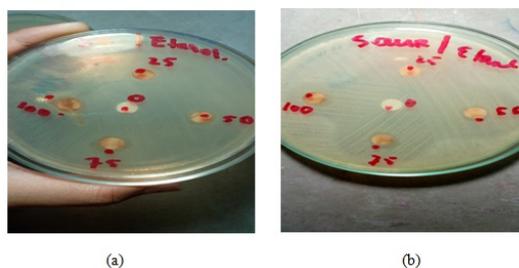
Pada ekstrak etanol cenderung lebih sensitif terhadap bakteri Gram negatif (*E. coli*)

dibanding bakteri Gram positif (*S. aureus*). Menurut Pelezar & Chan (1988), hal ini disebabkan karena bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis daripada gram positif, yaitu 10-15 nm. Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari 10% peptidoglikan, lipopolisakarida dan kandungan lipid 11-12%, sedangkan dinding sel bakteri gram positif terdiri dari 60-100% peptidoglikan dan lipid 1-4%.

Penelitian yang dilakukan oleh Hafiz (2015), ekstrak etanol kulit nanas basah cenderung lebih sensitif terhadap bakteri Gram negatif (*E.coli*) dibanding bakteri Gram positif (*S. aureus*) dengan konsentrasi 1% menunjukkan diameter 12,5 mm, konsentrasi 2% menunjukkan diameter 14 mm dan konsentrasi 4% menunjukkan diameter 15 mm. Data aktivitas penghambatan disajikan pada Tabel 2.

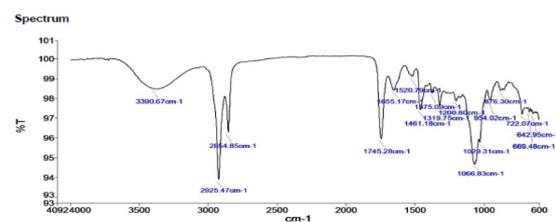
Tabel 2. Luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri *E.coli* dan *S. aureus* setelah diinkubasi selama 1x24 jam

Konsentrasi (%)	Diameter (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	n-Heksana	Kloroform	Etanol	n-Heksana	Kloroform	Etanol
25	0	7,5	11,0	0	0	0
50	0	9,0	11,5	0	9,0	9,0
75	0	9,5	13,0	0	9,5	9,5
100	0	9,5	17,0	0	10,0	10,5



Gambar 1. (a) Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol pada bakteri *Escherichia coli* dan (b) Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Ekstrak etanol kemudian diuji dengan FT-IR dan GC-MS. Penggunaan FT-IR dilakukan dengan bilangan gelombang 4000-590 cm^{-1} . Spektrum FT-IR ekstrak etanol disajikan pada Gambar 2. Keterangan lebih lengkap mengenai gambar tersebut di atas disajikan dalam Tabel 3.



Gambar 2. Spektrum FT-IR ekstrak etanol biji buah srikaya

Tabel 3. Hasil analisis spektrum inframerah senyawa ekstrak etanol biji buah srikaya

Gugus	Jenis senyawa	Daerah serapan (cm ⁻¹)
O-H	Alkohol, fenol (ikatan H)	3390,67
C-H	Alkana	2925,47;2854,85
C=O	Aldehida, keton, asam karboksilat, ester	1745,28
C=C	Alkena	1655,17
C=C	Cincin aromatik	1520,79
C-H	Alkana	1461,18;1375,09
C-N	Amina	1319,75
C-O	Aldehida, eter, asam karboksilat, ester	1200,8;1066,83;1029,31

Kromatogram GC-MS ekstrak etanol biji buah srikaya diperoleh komponen senyawa kimia pada ekstrak tersebut yang disajikan pada Tabel 4

Tabel 4. Komponen senyawa kimia ekstrak etanol biji buah srikaya

Waktu retensi	Puncak (% area)	SI	Berat molekul	Fragmentasi (m/z)	Nama senyawa
1,5140	98,56	82	117	46	2,4-Thiazolidinedione
23,398	0,120	93	164	40, 55, 65, 77, 91, 103, 121, 131, 149, 164	3-Allyl-6-methoxyphenol
36,994	0,890	96	270	41, 57, 74, 87, 101, 115, 129, 143, 157, 171, 185, 199, 213, 227, 239, 256, 270	Hexadecanoic acid, methyl ester
40,492	0,430	94	296	55, 69, 74, 85, 96, 98, 123, 137, 152, 166, 180, 193, 209, 222, 235, 246, 264, 266, 284, 296	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester

Hasil identifikasi yang ditunjukkan pada Tabel 4, senyawa pada puncak 3 dengan waktu retensi 36,994 menit dan SI 96 memiliki fragmen-fragmen yang mirip dengan senyawa metil palmitat (C₁₇H₃₄O₂). Namun senyawa metil palmitat memiliki berat molekul 270. Hal ini diduga senyawa hasil merupakan fragmentasi dari senyawa metil palmitat. *Hexadecanoic acid methyl ester* (metil palmitat) termasuk asam lemak yang memiliki sifat antibakteri dengan merusak struktur dinding dan membran sel dengan mekanisme secara sinergis dengan berbagai senyawa aktif sehingga dapat meningkatkan pengaruh aktivitas antibakteri (Padmini, *et al.*; 2010). Asam lemak seperti *hexadecanoic acid methyl ester* (metil palmitat), *hexadecanoic acid* (asam palmitat), *9-octadecenoic acid methyl ester* (metil elaidat), *9-octadecenoic acid* (asam oleat), *octadecanoic acid* (asam stearat) dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Noviyanti; 2010; Asghar, *et al.*; 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Agustini dan Kusmiati (2002), terhadap mikroalga *Dunaliella salina* menunjukkan bahwa ekstrak mikroalga *Dunaliella salina* dengan menggunakan metode maserasi dan digesti mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Senyawa aktif bersifat

antibakteri yang terkandung dalam ekstrak etanol tersebut adalah asam heksadekanoat (asam palmitat) dan asam 9,12- Oktadekadienoat (asam linoleat).

Simpulan

Komponen kimia yang teridentifikasi dalam ekstrak biji buah srikaya (*Annona squamosa L*) yaitu 2,4-Thiazolidinedione, 3-Allyl-6-methoxyphenol, Hexadecanoic acid, methyl ester (metil palmitat), 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (metil elaidat). Ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa L*) dengan pelarut etanol memiliki aktivitas antibakteri tertinggi. Ekstrak etanol menghasilkan diameter hambat yang lebih besar daripada ekstrak *n*-heksana dan ekstrak kloroform terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* pada ekstrak *n*-heksana tidak menunjukkan aktivitas penghambatan sama sekali. Pada ekstrak kloroform dengan konsentrasi 100% memberikan zona bening terbesar pada bakteri *E.coli* dan *S.aureus* masing-masing 9,5 mm dan 10 mm. Ekstrak etanol dengan konsentrasi 100% memberikan zona bening terbesar masing-masing 17 dan 10,5 mm.

Daftar Pustaka

- Agustini, N.W.S. & Kusmiati. 2002. *Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Secara Maserasi dan Digesti dalam Berbagai Pelarut dari Mikroalga Dunaliella salina*. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong
- Asghar, S., Rehman, M.I. Choudahry. and Rahman. 2011. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis of Petroleum Ether Extract (Oil) and Bioassays of Crude Extract of *Iris Germanica*. *I. J. of Genetics and Molecular Biology*, 3(7): 95-100
- Baiano, J.C. & A.C. Barnes. 2009. Toward Control of *Sreptococcus iniae*. *Synopsis. Emerging Infect. Dis.*, 15(12): 1891-1896
- Binadja, A., A. Kamal. & Sudarmin. 2012. Aktivitas Antimikroba Senyawa Hasil Reaksi Hidrasi Kariofilena pada *E.coli* dan *S.aureus*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 1(2): 152-157
- Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. 2008. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia 1 jilid I*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Dzidic, S., J. Suskovic. & B. Kos. 2008. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. *Food Technol. Biotechnol*, 46(1): 11-221
- Hafiz, M. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Kulit Nanas Kering dan Basah. *Skripsi*. Semarang: Universitas Negeri Semarang

- Noviyanti, L. 2010. Modifikasi Teknik Kromatografi Kolom untuk Pemisahan Triglicerida dari Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk.*). Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Padmini, E.A., Valarmathi, A., and Rani, M.U. 2010. Comparative Analysis of Chemical Composition and Antibacterial Activities of *spicata* and *Camellia sinensis*. *Asian J. Exp. Biol. Sci*, 1: 772-781
- Pelezar, Michael, J., E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jakarta: UI Press
- Volk, W.A., dan Wheeler, J.A. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid I Edisi kelima*, diterjemahkan oleh Markham. Jakarta: Erlangga
- Wandasari, F., Ruslan, K. dan Kusmardiyani, S. 2007. Telaah Fitokimia Daun Srikaya (*Annona Squamosa L.*) yang Berasal dari Dua Lokasi Tumbuh. *Skripsi*. Penelitian Obat Bahan Alam. Sekolah Farmasi ITB Bandung
- Wardhana, A., A. Husein., dan J. Manurung. 2005. *Efektifitas Ekstrak Biji Srikaya (Annona squamosa L) dengan Pelarut Air, Metanol dan Heksan terhadap Mortalitas Larva Caplak Boophilus microplus secara In Vitro*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner
- Wardhana, A., E. Widyastuti., A.W.A. Wiratmana., S. Muharsini., dan Darmono. 2004. *Uji Efikasi Ekstrak Heksan Daging Biji Srikaya (Annona squamosa L) terhadap Pertumbuhan Larva Lalat Chrysomya bezziana secara In Vitro*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga