

## UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 96% BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) SEBAGAI ANTIDIARE YANG DISEBABKAN OLEH BAKTERI *Shigella dysenteriae* DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM

Submitted : 28 Nov 2015

Edited : 15 Des 2015

Accepted : 21 Des 2015

Leonov Rianto, Indri Astuti Handayani, Annisa Septiyani

Akademi Farmasi IKIFA

Email : leonovrianto@gmail.com

### ABSTRACT

This research aims to find out how to extract ethanol 96% seed custard apples as Antidiarrhoeal that is caused by bacteria *Shigella dysenteriae* with different concentrations and compare with chloramphenicol. In addition, also to find out whether their respective inhibitory power of concentration of ethanol 96% seed extract custard apples have a difference in meaning. Research done by experimental methods, was carried out in the laboratory of pharmaceutical Academy IKIFA. Testing was done using the diffusion disc method. The concentration of ethanol 96% seed extract custard apples are used i.e. 15%, 30%, 45%, 60%, and 75%. As positive controls used chloramphenicol 30 µg/ml and NaCl 0.9% as the negative control. Each test is carried out as many as eight repetitions. The results showed an average diameter drag power which formed on the test solution with a concentration of 15%, 30%, 45%, 60% and 75% respectively of 6,887 mm, 11,49 mm, 8,144 mm, 7,694 mm, 7,150 mm, whereas for chloramphenicol for 40,31 mm. Based on the results of the statistical tests there are meaningful differences between concentrations showed a meaningful difference between the concentration of 15% and 30%, 15% and 60% and 15% and 75%. Conclusion of this research is at a concentration of 15%, 96% ethanol extract of seeds of custard apples have been able to inhibit the growth of bacteria, *Shigella dysenteriae*.

**Keywords :** Custard apples seed (*Annona squamosa* L), antidiare, *Shigella dysenteriae*, disc diffusion method

### PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan hal yang sangat penting bagi kehidupan manusia. Kondisi lingkungan yang kurang baik dapat mengganggu kesehatan. Berbagai macam bakteri, kuman, virus dapat tumbuh dan berkembang biak dengan cepat yang akan mengganggu kehidupan manusia. Diare, DBD, muntaber, pilek, batuk merupakan contoh dari penyakit yang ditimbulkan.

Salah satu penyakit yang sering terjadi di Indonesia adalah diare akibat *Shigella dysenteriae* dan berjangkit sebagai endemi. Distribusi musiman yang dilaporkan, dengan puncak-puncaknya pada musim dingin<sup>(1)</sup>.

Salah satu penyebab diare karena bakteri *Shigella dysenteriae*. Shigelosis atau disentri basiler adalah suatu reaksi peradangan akut saluran

pencernaan yang disebabkan oleh bakteri yang tergolong genus shigella. Penyakit ini berbeda dari disentri yang disebabkan oleh amoeba dan oleh virus<sup>(1)</sup>.

*Shigella dysenteriae* adalah bakteri gram negatif yang telah lama dikenal sebagai agen penyebab penyakit disentri basiler. Berbentuk batang, ukuran 0,5-0,7 µm x 2-3 µm dan tidak berflagel<sup>(2)</sup>.

Teknologi di bidang kedokteran khususnya bidang antibiotik banyak memberikan kemudahan bagi kehidupan manusia. Namun, dampak negatif yang tidak dapat dicegah seringkali timbul sehingga terjadi peningkatan angka kesakitan dan angka kematian. Oleh karena itu, perlu dikembangkan alternatif pengobatan baru yang efektif, efisien, dan tidak melupakan standar mutu

pelayanan medis. Dalam hal ini, pengobatan dengan memanfaatkan bahan-bahan alam dapat dijadikan pilihan.

Keistimewaan tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L) khususnya pada bidang Mikrobiologi ialah terletak pada biji. Walaupun belum terdapat penelitian mendalam tentang biji Srikaya sebagai antidiare, tetapi bagian lain dari tanaman srikaya mengandung zat yang berguna sebagai antidiare. Karena manfaat itu peneliti ingin mengetahui apakah biji srikaya memiliki aktivitas antidiare yang disebabkan oleh *Shigella dysenteriae*.

## BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan yaitu biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) yang didapat di Pasar Induk Kramat Jati Jl. Raya Bogor Km 17 Kramat Jati Jakarta Timur, bakteri *Shigella dysenteriae* yang di dapat dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Indonesia. Media: Nutrient Agar (NA), Mueller Hinton Agar (MHA), *Nutrient Broth*, Natrium Klorida (NaCl).

## METODE PENELITIAN

### Pembuatan Ekstrak Secara Maserasi

Pembuatan ekstrak biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia biji Srikaya sebanyak 25 g masukkan ke dalam wadah maserasi, lalu tambahkan 250 ml etanol 96% direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan sampai 24 jam. Maserat dipisahkan dan proses diulangi 2 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan diatas waterbath dengan suhu 70 °C sampai terbentuk ekstrak kental. Rendemen biji Srikaya yang diperoleh ditimbang dan dicatat.

### Identifikasi senyawa fitokimia dalam ekstrak

#### 1. Uji Alkaloid

Timbang 500 mg ekstrak, tambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air, kemudian panaskan selama 2 menit. Setelah dingin disaring, 3 tetes filtrat diambil, kemudian ditaruh pada 2 tabung reaksi. Pada tabung reaksi pertama, sampel ditambahkan 2 tetes Meyer LP, jika terdapat endapan putih kuning maka positif alkaloid. Endapan putih kuning tersebut larut dalam metanol. Pada tabung reaksi kedua, sampel

ditambahkan 2 tetes Bouchard LP, maka akan terbentuk endapan coklat sampai hitam<sup>(3)</sup>.

#### 2. Uji Flavonoid

Timbang 1 g ekstrak, tambahkan 5 ml etanol 95%, kemudian panaskan. Setelah itu masukkan serbuk Magnesium sebanyak 0,1 g dan 10 tetes HCl pekat, maka akan terbentuk merah jingga sampai dengan merah ungu<sup>(3)</sup>.

### Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan cara yang sesuai. Corong, cawan petri disterilisasi dalam oven dengan suhu 160 °C selama 1 jam. Spatula, ose dan pinset disterilisasi dengan pemijaran. Tabung reaksi, pipet kaca, erlenmeyer, tip mikropipet, kapas, media NA dan media MHA disterilisasi di dalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit dengan mengatur tekanan sebesar 15 dyne/cm<sup>3</sup> (1 atm). Sebelumnya semua alat dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas<sup>(4)</sup>.

### Pembuatan Nutrient Agar

Larutkan 2,3 g serbuk NA dengan 100 ml air suling dalam erlenmeyer, lalu dipanaskan sambil sesekali diaduk sampai serbuk NA larut. Kemudian larutan NA dituang ke dalam tabung reaksi yang sudah dikalibrasi sampai 7 ml. Setelah dimasukkan, tutup tabung reaksi dengan kapas, sterilkan di dalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Miringkan dan didinginkan sehingga terbentuk agar miring<sup>(4)</sup>.

### Pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA)

Dilarutkan 6,8 g bubuk MHA dengan 200 ml air suling dalam erlenmeyer lalu panaskan sambil sesekali diaduk sampai serbuk MHA larut. Lalu sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Media agar didinginkan kemudian dituang ke dalam cawan petri yang telah steril dengan kedalaman 5 mm dan biarkan memadat pada suhu kamar<sup>(4)</sup>.

### Pembuatan Nutrient Broth

Sebanyak 3,65 g bahan dilarutkan dalam 100 ml air suling, kemudian dipanaskan hingga larut sempurna. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit<sup>(5)</sup>.

### Pembiakan Bakteri

Diambil satu sengkeli bakteri dari biakan murni *Shigella dysenteriae* dengan menggunakan ujung ose steril. Lalu goreskan secara zig-zag pada seluruh media nutrient agar miring, oleskan secara merata. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam<sup>(4)</sup>.

### Pembuatan Suspensi Bakteri

Diambil beberapa sengkeli bakteri hasil persiapan bakteri uji. Masukkan ke dalam tabung yang berisi larutan NB, kemudian dikocok secara berhati-hati hingga terbentuk suspensi bakteri<sup>(4)</sup>.

### Pembuatan Larutan Uji Sampel

Pembuatan larutan induk ekstrak etanol 96% biji Srikaya yaitu dengan menimbang 7 g ekstrak kental biji srikaya kemudian dilarutkan dengan NaCl fisiologis hingga 100 ml kocok sampai homogen. Kemudian buat larutan uji sampel dengan konsentrasi 15%, 30%, 45%, 60% dan 75% dengan cara :

- Ukur dengan gelas ukur dan mikropipet larutan induk sebanyak 6,5 ml, kemudian encerkan dengan NaCl fisiologis hingga 10 ml. Kocok sampai homogen. Diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 75%.
- Ukur dengan gelas ukur dan mikropipet larutan konsentrasi 75% sebanyak 5,6 ml, kemudian encerkan dengan NaCl fisiologis hingga 10 ml. Kocok sampai homogen. Diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 60%.
- Ukur dengan gelas ukur dan mikropipet larutan konsentrasi 60% sebanyak 5,25 ml, kemudian encerkan dengan NaCl fisiologis hingga 10 ml. Kocok sampai homogen. Diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 45%.
- Ukur dengan gelas ukur dan mikropipet larutan konsentrasi 45% sebanyak 4,7 ml, kemudian encerkan dengan NaCl fisiologis hingga 10 ml. Kocok sampai homogen. Diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 30%.
- Ukur dengan gelas ukur dan mikropipet larutan konsentrasi 30% sebanyak 3,5 ml, kemudian encerkan dengan NaCl fisiologis hingga 10 ml. Kocok sampai homogen. Diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 15%.  
Larutan uji ekstrak biji srikaya siap ditetaskan pada cakram.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Pada setiap cawan petri yang berisi media MHA dioleskan suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* secara merata, lalu ratakan dengan kapas. Letakkan kertas cakram pada permukaan MHA tersebut dengan menggunakan pinset. Teteskan ekstrak etanol 96% biji srikaya (*Annona squamosa* L.) pada kertas cakram yang berada di cawan petri yang telah ditumbuhi media. Lakukan delapan kali pengulangan sesuai dengan konsentrasi. Sebagai kontrol media digunakan cawan petri yang telah ditumbuhi media dan bakteri *Shigella dysenteriae* saja. Sebagai kontrol positif digunakan cakram antibiotik kloramfenikol dengan kandungan 30 µg/disc yang diletakkan pada media agar. Kemudian semua perlakuan dimasukkan ke inkubator pada suhu 37° selama 18-24 jam<sup>(4)</sup>.

### Pengamatan dan Pengukuran Diameter Hambat Bakteri

Efek antibakteri dinyatakan positif jika terlihat zona hambat di sekitar kertas cakram. Dilakukan pengukuran zona hambat yang berada di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong (dalam mm).

Rumus pengukuran zona hambat sebagai berikut:

$$X = \frac{Z1 + Z2 + Z3... + Zn}{n}$$

Keterangan :

X= rata-rata daya hambat (mm)

Z= diameter hambat (mm)

n= jumlah perlakuan

### Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian yang sudah dilakukan dengan larutan uji yaitu ekstrak etanol 96% biji srikaya (*Annona squamosa* L.), kontrol positif yaitu antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif NaCl fisiologis. Untuk menganalisis data penelitian ini, dilakukan pengamatan visual dan pengukuran rata-rata zona hambat disekitar cakram yang telah ditetesi larutan uji terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

Data yang diperoleh merupakan data primer dari hasil pengamatan laboratorium yang kemudian dianalisis dengan cara mengamati, mencatat, dan menganalisis. Data tersebut kemudian akan diuji statistik normalitas *Kolmogorov-Smirnov*<sup>a</sup>

dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene* dan uji T.

## HASIL

Hasil organoleptik meliputi warna, bau dan rasa yaitu serbuk biji srikaya (*Annona squamosa* L.) berwarna hitam, bau khas, rasa pahit. Hasil maserasi ekstrak biji srikaya beserta rendemennya dapat dilihat pada tabel 1.

### Identifikasi senyawa fitokimia dalam ekstrak

Identifikasi senyawa fitokimia dalam ekstrak etanol 96% biji srikaya (*Annona squamosa* L.) meliputi uji alkaloid, dan uji flavonoid. Hasil identifikasi senyawa fitokimia dalam ekstrak dapat dilihat pada tabel 2.

### Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan larutan uji ekstrak etanol 96% biji srikaya (*Annona squamosa* L.) konsentrasi 15%, 30%, 45% 60%,

75% dan kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol. Besarnya rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 15% sebesar 11,49 mm, pada konsentrasi 30% sebesar 6,887 mm, pada konsentrasi 45% sebesar 8,144 mm, pada konsentrasi 60% sebesar 7,694 mm, pada konsentrasi 75% sebesar 7,150 mm.

### Analisis Data

Analisis data dilakukan setelah mendapatkan diameter zona hambat. Analisis data dimulai dengan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*<sup>a</sup>. Hasil dari uji *Kolmogorov-Smirnov*<sup>a</sup> adalah *p-value*  $0,00 < 0,05$  yang berarti data tidak normal. Selanjutnya uji homogenitas dengan *Levene test*, hasilnya adalah *p-value*  $0,515 > 0,05$  yang berarti sebaran data homogen. Kemudian dilanjutkan uji *Kruskall-Wallis*, *p-value*  $0,00 < 0,05$  artinya ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

**Tabel 1.** Hasil pembuatan ekstrak secara maserasi

No	Maserasi	Maserat	Hasil (mL)	Warna	Berat Ekstrak Kental (g)	Rendemen
1.	Biji srikaya	I	222	Coklat	8,36	33,4%
		II	249	Coklat		
		III	248	Coklat		

**Tabel 2.** Hasil identifikasi senyawa fitokimia dalam ekstrak.

No.	Uji kandungan Kimia Ekstrak	Ekstrak Biji Srikaya ( <i>Annona squamosa</i> L.)
1.	Flavonoid	(+)
2.	Alkaloid	(+)
	a) Mayer LP	(+)
	b) Bouchardat LP	(+)

Keterangan : + : menyatakan positif  
- : menyatakan negatif

**Tabel 3.** Hasil uji aktivitas antibakteri

Perlakuan	Ekstrak Etanol 96% Biji Srikaya ( <i>Annona squamosa</i> L.) Diameter Zona Hambat (mm)					
	15%	30%	45%	60%	75%	Kontrol Positif
1	9,80	10,00	6,10	8,20	9,50	42,70
2	11,40	10,60	10,00	8,80	7,40	40,15
3	9,00	9,300	7,45	8,70	10,0	44,10
4	8,40	9,40	0,00	7,45	10,00	43,65
5	19,0	9,30	9,30	8,30	11,50	40,60
6	11,67	0,00	9,00	11,40	8,80	37,60
7	11,67	6,50	11,40	8,70	0,00	40,30
8	11,00	0,00	11,90	0,00	0,00	33,40
Rata-rata	11,49	6,88	8,14	7,69	7,15	40,31

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi cakram. Metode ini digunakan untuk mengetahui besar diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram pada media agar yang telah ditanami bakteri gram negatif yaitu bakteri *Shigella dysenteriae*. Metode difusi cakram digunakan karena merupakan salah satu metode termudah untuk menentukan potensi antibiotik suatu zat. Penentuan potensi antibiotik maserasi biji srikaya ini dilihat dari besarnya zona hambat masing-masing konsentrasi larutan uji.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi, karena metode ini mudah dalam pengerjaannya dan tidak menggunakan peralatan khusus.

Pada kontrol positif digunakan cakram kloramfenikol 30 µg/disc. Kloramfenikol digunakan untuk melihat bakteri yang akan diujikan masih sensitif atau sudah resisten yang ditandai dengan besarnya zona hambat. Bakteri yang masih sensitif mempunyai zona hambat sebesar 18 mm atau lebih, sedangkan bakteri yang sudah resisten mempunyai diameter zona hambat sebesar 12 mm atau kurang<sup>(6)</sup>. Pada kontrol negatif digunakan NaCl 0,9%.

Bakteri yang digunakan sebagai bakteri uji adalah bakteri *Shigella dysenteriae*. *Shigella dysenteriae* adalah bakteri gram negatif yang telah lama dikenal sebagai agen penyebab penyakit disentri basiler<sup>(2)</sup>. Sebelum digunakan dalam

penelitian uji aktivitas antibakteri, terlebih dahulu dilakukan peremajaan bakteri selama 18-24 jam karena diperlukan bakteri dalam keadaan aktif dan sedang mengalami masa pertumbuhan yang optimal.

Tumbuhan srikaya mengandung alkaloid tipe asporfin (anonain), bisbenziltetrahydroisokinolin (retikulin), sianogen, sitrulin, asam aminobutirat, ornitin, arginin, serta arsitogenin (skuamostatin C dan D), anonasin A, anonin, skuarnostatin A, bulatasin, bulatasinon dan flavonoid<sup>(7)</sup>.

Terhambatnya pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dapat terjadi karena adanya aktivitas dari flavonoid yang menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dan DNA bakteri. Selain itu, flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga memungkinkan untuk merusak membran sel bakteri<sup>(6)</sup>. Kemudian, senyawa alkaloid mempunyai kemampuan dalam menghambat kerja enzim untuk mensintesis protein bakteri. Penghambatan kerja enzim ini dapat mengakibatkan metabolisme bakteri terganggu. Alkaloid juga dapat merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan bakteri mati<sup>(8)</sup>.

Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel 3. Dengan adanya peningkatan konsentrasi diharapkan adanya peningkatan aktivitas antibakteri dari ekstrak biji srikaya. Namun, terjadi penurunan pada konsentrasi 30%, 60% dan 75% dan saat konsentrasi 45% terjadi kenaikan kembali. Hal ini terjadi karena data yang

didapat kurang merata yang disebabkan oleh cara pengolesan bakteri yang kurang merata dan penggunaan media yang kurang tepat untuk pertumbuhan dari bakteri *Shigella dysenteriae* sehingga menghasilkan daya hambat yang kurang maksimal dan diameter zona hambat yang berbeda pada tiap konsentrasi.

Hasil diameter rata-rata zona hambat bakteri *Shigella dysenteria* pada cakram kloramfenikol 30 µg/disc sebesar 44,10 mm. Sedangkan, untuk hasil diameter rata-rata zona hambat maserasi biji srikaya yang paling optimal yaitu pada konsentrasi 15%. Dari hasil tersebut, kloramfenikol memiliki daya hambat yang jauh lebih optimal dibandingkan dengan maserasi biji srikaya. Hal ini wajar, karena kloramfenikol adalah antibiotik dengan spektrum kerja luas, yang efektif terhadap hampir semua gram positif dan sejumlah kuman gram negatif. Bakteri gram positif dihambat oleh kloramfenikol pada konsentrasi antara 1-10 µg/ml dan bakteri gram negatif yang dihambat pada konsentrasi antara 2-5 µg/ml. Sekitar 95% galur bakteri gram negatif dihambat secara invitro oleh 8,0 µg/ml atau kurang<sup>(9)</sup>. Namun, dari hasil ini cukup untuk membuktikan bahwa maserasi biji srikaya memiliki aktivitas antibakteri. Pada kontrol negatif yaitu NaCl 0,9%, tidak terbentuk adanya zona hambat disekitar cakram.

## SIMPULAN

Dari penelitian ini Ekstrak etanol 96% biji srikaya (*Annona squamosa* L.) memiliki khasiat antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 15%, 30%, 45%, 60% dan 75%. Besarnya diameter zona hambat pada konsentrasi 15% sebesar 11,49 mm, pada konsentrasi 30% sebesar 6,887 mm, pada konsentrasi 45% sebesar

8,144 mm, pada konsentrasi 60% sebesar 7,694 mm, pada konsentrasi 75% sebesar 7,150 mm.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sari, Diane tantia, 2010, Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma domesticae*) Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* ISOLAT 2312-F Secara *In Vitro*, Skripsi, Malang.
2. Staf pengajar FKUI, 2012, Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran edisi Revisi, Binarupa Aksara, Jakarta.
3. Departemen Kesehatan, 1979, Materia Medika Indonesia, Edisi III, 112-115, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
4. Tim Penyusun Buku Pedoman Praktikum Mikrobiologi Jurusan Farmasi, 2010, Buku Pedoman Praktikum Mikrobiologi, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II, Jakarta.
5. Priyandari, Susanti, 2003, Isolasi Derivatisasi Uji Aktivitas Antibakteri Andrografolid dari Herba Sambiloto, Skripsi, Jakarta.
6. Nurfianita, Rahma, 2013, Uji Aktivitas Antibakteri Infus Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram, Laporan Penelitian, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II, Jakarta.
7. Anonim, 2008, Buku Pintar Tanaman Obat: 431 jenis tanaman penggempur aneka penyakit, AgroMedia, Jakarta.
8. Dwitasari, Indar Lylan, 2003, Daya Antibakteri antara Ekstrak Teh Hijau dan Ekstrak Teh Hitam terhadap Bakteri dari Saliva Anak, Skripsi, Universitas Airlangga.
9. Katzung, B. G. 1998. Farmakologi Dasar dan Klinik edisi VI. Alih bahasa oleh Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran-Universitas Sriwijaya. EGC, Jakarta.