

Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona Muricata Linn*) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi*

Test of Antibacterial Ethyl Acetate Fraction Leaf Soursop (*Annona muricata Linn*) against bacteria *Salmonella Typhi*

¹M Nur Ilhamudin, ²Usep Abdullah Husin, ³Raden Anita Indriyanti, ⁴Lelly Yuniarti

¹Prodi Pendidikan dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

²Bidang Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

³Bidang Farmakology, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

⁴Bidang Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email : ¹m_nurilhamudin@yahoo.com, ²usep.abdullah@gmail.com, ³kreeshna.angel@gmail.com,

⁴Lelly.yuniarti@gmail.com

Abstract. Typhoid fever is a systemic infection caused by *Salmonella typhi*. Typhoid fever In Indonesia, typhoid problem were caused by factor environmental hygiene, antibiotic resistance, and ineffective vaccination factors. Drug of choice for this disease is Chloramphenicol. Chloramphenicol is known to have some side effects. Leaves soursop (*Annona muricata Linn*) has been used by most of Indonesian people to treat many diseases. The active substance contained in soursop leaves are *Annoneceus acetogenin*, Flavonoids, Tanin, Alkaloid and Saponin are known to have antibacterial effects. The aim of this study was to investigate the antibacterial activity of fraction ethyl acetate of soursop leaves against *Salmonella typhi* and assess the Minimum inhibitory concentration (MIC), and the minimum murder concentration (MMC) of fraction ethyl acetate of leaves soursop. The study was conducted with pure laboratory experimental methods such as in vitro. The sampels are pure cultures *Salmonella typhi* were obtained from laboratory of STIKES UNJANI. The material test of Fraction ethyl acetate of leaves of soursop (*Annona muricata Linn*) with a concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, chloramphenicol 30µg as positive control, and Tween 80 as negative control. Antibacterial effect against *Salmonella typhi* tested using the modified Kirby-Bauer method on Mueller Hilton agar media performed as much as four times repetition. The result of antibacterial test showed inhibition zone formation at a concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, and Chloramphenicol as positive control. The conclusion was Fraction ethyl acetate of leaves of soursop has antibacterial effect svery low against *Salmonella typhi*. But in minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bakteriasidal concentration (MBC) of fraction ethyl acetate soursop leaves showed negative results.

Keywords : Fraction Ethyl Acetate of Leaves of Soursop (*Annona Muricata Linn*), *Salmonella Typhi*

Abstrak. Demam tifoid merupakan suatu penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Masalah Tifoid di Indonesia disebabkan oleh faktor kebersihan lingkungan, resistensi antibiotik, dan belum adanya vaksin yang efektif. Obat yang menjadi pilihan utama pada penyakit ini adalah kloramfenikol. Obat ini diketahui memiliki beberapa efek samping. Tanaman sirsak telah digunakan secara turun temurun oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati penyakit . Zat aktif yang terkandung dalam daun sirsak yaitu *Annoneceus acetogenin*, Flavonoid, Tanin, Alkaloid, dan Saponin yang memiliki efek antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menilai efektivitas antibakteri Fraksi Etil Asetat daun sirsak terhadap *Salmonella typhi*, dan menilai Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari Fraksi etil asetat daun sirsak. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimental laboratorik murni secara in vitro. Sampel berasal dari biakan murni *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Laboratorium STIKES UNJANI. Bahan uji berupa Fraksi etil asetat daun sirsak dengan konsentrasi 20%,40%,60%,80%, kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif dan Tween 80 sebagai kontrol negatif. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi modifikasi Kirby bauer dengan medium agar Mueller Hilton yang dilakukan sebanyak empat kali pengulangan. Hasil uji antibakteri menunjukkan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 20%,40%,60%,80% dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Kesimpulan dari penelitian ini adalah Fraksi etil asetat daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri sangat rendah terhadap *Salmonella typhi*. . Namun pada konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal fraksi etil asetat daun sirsak menunjukkan hasil yang negatif.

Kata Kunci : Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona Muricata Linn*), *Salmonella Typhi*

A. Pendahuluan

Demam tifoid atau Tifus merupakan suatu penyakit infeksi sistemik (Setiati et al 2010). Penyakit ini erat kaitannya dengan kebersihan pribadi, kebersihan lingkungan, kebersihan makanan yang telah terkontaminasi oleh bakteri, pada penyakit ini bakteri yang menjadi penyebab pada Demam tifoid yaitu *Salmonella typhi* (Kemenkes, tahun 2008). Di Indonesia sendiri, penyakit ini bersifat endemik. Menurut WHO 2008, penderita dengan demam tifoid di Indonesia tercatat 81,7 % per 100.000 kasus/tahun dengan angka kematian lebih dari 20.000 dan 77% terjadi pada umur 3-11 tahun. Berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2010 penderita demam tifoid dan paratifoid yang dirawat inap di Rumah Sakit sebanyak 41.081 kasus dan 279 diantaranya meninggal dunia (Depkes, tahun 2010). Sedangkan di Jawa Barat tercatat selama tahun 2006 sebanyak 90.891 kasus yang terdiri atas 70.846 kasus rawat jalan dan 20.045 kasus rawat inap (Dinkes, tahun 2007). Tingginya angka kejadian Demam tifoid di Indonesia selain karena faktor kebersihan lingkungan, dapat juga karena faktor lain seperti resistensi antibiotik serta belum adanya vaksin yang efektif dan pengobatannya dapat menimbulkan beberapa efek samping yang tidak serius sampai yang serius seperti penekanan sumsum tulang dan yang paling ditakuti terjadinya anemia aplastik. Indonesia kaya akan keanekaragaman tanaman yang diteliti banyak mengandung zat yang bermanfaat dalam pengobatan berbagai penyakit, salah satunya tanaman sirsak. Tanaman sirsak merupakan tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional (Mardiana et al 2011). Tanaman Sirsak (*Annona Muricata Linn*) merupakan tanaman tahunan yang dapat tumbuh dan berbuah sepanjang tahun. Semua bagian pada tanaman sirsak memiliki banyak khasiat sebagai antimikroba, antikanker, antioksidan, dan untuk menyembuhkan penyakit mulai dari buahnya, akarnya dan salah satunya adalah daunnya (Dewi HAC Hermawati R, tahun 2013). Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu : “Apakah fraksi etil asetat memiliki efektivitas sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Selanjutnya tujuan dalam penelitian ini terdapat pada pokok sebagai berikut.

1. Untuk menilai daya hambat fraksi etil asetat daun sirsak terhadap bakteri *Salmonella typhi*.
2. Untuk menilai konsentrasi Hambat Minimum fraksi etil asetat daun sirsak terhadap bakteri *Salmonella typhi*.
3. Untuk menilai Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi etil aetat daun sirsak terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

B. Landasan Teori

Salmonella typhi merupakan bakter gram negatif batang yang berukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm dan besar koloni rata-rata 2-4 mm. Bakteri ini dapat bergerak karena memiliki flagel diseluruh tubuhnya. Bakteri ini mudah tumbuh pada media apapun dan dapat tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob pada suhu 15-41°C (suhu pertumbuhan optimum sekitar 37°C) dan dapat tumbuh pada pH 6-8. Pada media *agar Salmonella Shigella* (SSA) dan *MacConkey* koloni bakteri berbentuk bulat, kecil, dan tidak berwarna (Jawetz, 2010). Bakteri akan mati pada suhu 56°C dan pada keadaan kering juga dalam air. Organisme ini hampir selalu masuk melalui rute oral, biasanya bersama makanan atau minuman yang terkontaminasi yang akan masuk ke dalam usus halus yang nantinya akan menyebabkan timbulnya inflamasi sistemik dengan beberapa gejala pada demam tifoid (Kenneth J.Ryan, 2003). Tanaman sirsak merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Tengah dan Selatan serta Karibia yang memiliki

banyak sinonim. Bentuk tanaman sirsak ini tumbuh secara tegak lurus ke atas dengan tinggi mencapai 5-9 meter, berbatang besar, mengkilat, berdaun hijau dan berakar kuat. Tanaman ini memproduksi buah yang berukuran 15-20 cm berbentuk seperti jantung dan berwarna hijau yang manis, asam dan segar banyak mengandung serat. Selain buah tanaman ini juga memproduksi daun, bunga, batang, biji, kulit buah, dan akar yang memiliki kandungan-kandungan yang bermanfaat untuk kesehatan. Di Indonesia sendiri tanaman ini berbuah sepanjang tahun sehingga tanaman ini kerap ditanam di pekarangan, khususnya di daerah Jawa Barat dan Jawa tengah (Dewi HAC Hermawati R, 2010). Daun sirsak banyak berbagai kandungan yang memiliki efek sebagai anti-arthritis, antikanker, antimikroba, antilarva, antikejut, antiinflamasi, antinyeri, antioksidan, dan antiparasit. Diantaranya sebagai antimikroba yaitu : *Annoneceus acetogenin*, *Flavonoid*, *Tanin*, *Alkaloid*, dan *Saponin*. Karena itu daun sirsak disini banyak digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai macam penyakit, dan dapat diolah menjadi rebusan, teh, dan remasan oleh masyarakat untuk mengobati beberapa penyakit (Soheil Zorofchian Moghadamtousi et al., 2015).

Annoneceus acetogenin ini berasal dari asam amino rantai panjang, senyawa ini memiliki biokativitas seperti : sedatif, antiparasit, antiinflamasi. Senyawa ini merupakan inhibitor paling potensial untuk menghambat respirasi mitokondria rantai kompleks mikroorganisme (Nakanishi S et al., 2011) (Adeyanju et al., 2014). Flavonoid mengganggu membran sel dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel, sehingga membran sel menjadi lisis dan senyawa ini dapat masuk ke inti sel (Kumar S et al., 2013). Tanin mampu menghambat pertumbuhan mikroba melalui proses ekspresi gen sehingga sintesis DNA terganggu (Hassan KA et al., 2013). Saponin dengan cara pelepasan enzim laktat dehidrogenase (LDH), enzim ini dapat merusak membrane sel (Arabski M et al. 2012). Alkaloid merusak dinding sel melalui komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Aniszewski T, 2007).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Hambat Difusi Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak terhadap *Salmonella typhi* dalam mm

Pengulangan	Konsentrasi Perlakuan					Kontrol (+)
	Kontrol (-) Tween 80	20%	40%	60%	80%	<i>Kloramfenikol</i>
Pengulangan 1	0	2	1	2	3	36
Pengulangan 2	0	2	1	0	3	36
Pengulangan 3	0	3	1	0	0	36
Pengulangan 4	0	2	3	1	3	36
Rata-rata	0	2,25	1,5	0,75	2,25	36



Percobaan penelitian dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar

Kirby-Bauer. Hasil penelitian didapatkan dari pengukuran diameter rata-rata zona hambat bakteri pada medium *Mueller Hilton agar* dengan menggunakan jangka sorong. Hasil penelitian ini menunjukkan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram fraksi etil asetat daun sirsak dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan kontrol positif. Sementara untuk kontrol negatif Tween 80 terlihat tidak terbentuknya zona hambat. Terbentuknya zona bening ini menandakan bahwa adanya daya hambat fraksi etil asetat daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

Tabel 2. Hasil Uji Dilusi *Broth* Konsentrasi Hambat Minimal Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksil Etil Asetat yang Berbeda Terhadap *Salmonella typhi*

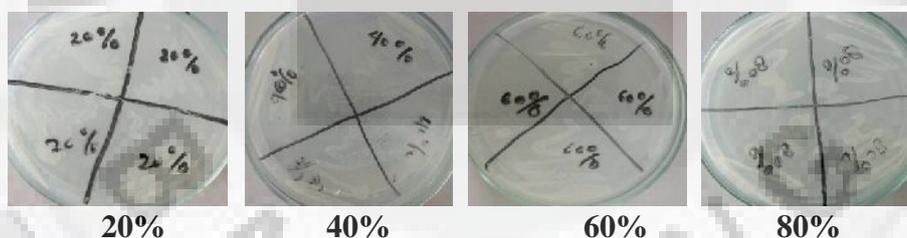
Metode dilusi	Konsentrasi Perlakuan			
	20%	40%	60%	80%
Hasil uji	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh

Keterangan : Jernih (+), keruh (-)

Tabel 3. Hasil Uji Dilusi *Broth* Bunuh Minimal Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksil Etil Asetat yang Berbeda Terhadap *Salmonelle typhi*

Metode dilusi	Konsentrasi Perlakuan			
	20%	40%	60%	80%
Hasil uji	Berkoloni	Berkoloni	Berkoloni	Berkoloni

Keterangan : Berkoloni (-), Tidd berkeloni (+)



Percobaan berikutnya dilakukan menggunakan metode dilusi broth untuk menentukan Konsentrasi hambat minimum dan Konsentrasi bunuh minimum pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%. Hasil penelitian pada tabel 2-3 didapatkan dari penilaian Konsentrasi hambat minimum secara kualitatif terhadap media broth yang telah dicampur dengan bakteri dan fraksi etil asetat daun sirsak lalu dilihat pada perubahan warna pada media broth, terdapat kekeruhan atau tidak dan setelah itu dilakukan subkultur pada media Mueller Hilton agar untuk menilai Konsentrasi bunuh minimum apakah terdapat koloni yang tumbuh atau tidak. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun sirsak pada konsentrasi tersebut tidak menghambat dan membunuh bakteri *Salmonella typhi*.

Belum terdapat penelitian yang mengemukakan bahwa terdapat efektifitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak terhadap *Salmonella typhi*. Penelitian sebelumnya bahwa zat-zat aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirsak tidak memiliki efektifitas sebagai antibakteri pada *Salmonella typhi*. Namun pada penelitian ini didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa zat-zat aktif pada fraksi etil asetat daun sirsak memiliki efektifitas sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi*

yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada uji difusi. Zat-zat aktif tersebut diantaranya, *Annoneceus acetogenin*, Flavonoid, Tanin, Alkaloid, dan Saponin (Yuniarti et al., 2016).

Terdapat banyak faktor yang mempengaruhi konsentrasi senyawa aktif dalam tanaman obat baik factor kimiawi dan biologis, seperti sumber tanaman, iklim, kondisi tanah, ketersediaan air, dan faktor demografi lainnya. Kualitas dan kuantitas senyawa aktif juga dipengaruhi oleh waktu pemanenan tanaman obat (Maulita Cut Nuria et al., 2010). Faktor lingkungan inilah yang mungkin mempengaruhi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh daun. Pada daun yang masih muda, mengandung zat-zat aktif yang bersifat antibakteri, sedangkan pada daun yang sudah tua sudah mulai ada daun yang rusak (Shashank Kumar, 2013).

D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dalam penelitian ini, peneliti menyimpulkan bahwa

1. fraksi etil asetat daun sirsak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.
2. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap *Salmonella typhi* negatif.
3. Konsentrasi Bambat Minimal (KBM) fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap *Salmonella typhi* negatif.

E. Saran

Saran yang diberikan peneliti berdasarkan penelitian yang telah dilakukan adalah :

1. Dilakukan uji fitokimia secara kuantitas untuk mengetahui kadar zat aktif yang terdapat pada fraksi etil asetat daun sirsak yang memiliki efek antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan menggunakan metode lain seperti *in vivo*.
3. Diharapkan dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan pelarut daun sirsak yang berbeda terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

Daftar Pustaka

- Adeyanju ES, Agyeno O. Asian Review of Enviromental and Earth Sciences Preliminary Phytochemical , Antimicrobial and Proximate Analysis of Tender Leaves of *Psidium guajava* L in Jos, Plateu State, Nigeria. 2014;1(2):35-8
- Aniszewski T. Alkaloids – Secrets of Life Internet. Alkaloids – Secrets of Life. 2007. 141-180 p.Availablefrom
- Arabski M, Wegierek-Ciuk A, Czerwonka G, Lankoff A, Kaca W. Effects of saponins against clinical *Escherichia coli* strains and eukaryotic cell line. 2012 ; 1–6
- Dewi HAC Hermawati R. Khasiat ajaib daun sirsak. Malang. Padi 2013 hlm 56-88. , Zuhud EA. Bukti khasiat kedahsyatan sirsak menumpas kangker Edisi ke-1 Jakarta: Agromedia Pustaka 2011.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. Medical Microbiology. McGraw-Hill Medical 25 edition. Chapter15 ; March 16, 2010

- Kenneth J.Ryan / C. George Ray. Sherris Medical Microbiology, McGraw-Hill Medical; Chapter 21 ; 4th (Fourth) Edition edition 2003
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, Nomor 364/MENKES/SK/V/2006 tentang Pedoman Pengendalian Demam Tifoid. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Tahun 2008
- Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. Sci World J. 2013
- Lim CK, Panesyan A, Hassan KA, Loper JE, Paulsen IT. Effect of tannin acid on the transcriptome of the soil bacterium *Pseudomonas protogens* Pf-5. May 2013 ; 79(9): 3141-4
- Maulita Cut Nuria, Enay Puji Astuti, Sumantri, Antibacterial Activities of Ethyl Acetate Fraction of Methanol Extract from sosor bebek leaves (*Kalanchoe pinnata* Pers), Tahun 2010 ; Hal 51-61
- Nakanishi S, Abe M, Yamamoto S, Murai M, Miyoshi H. Bis-THF motif of acetogenin binds to the third matrix-side loop of ND1 subunit in mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase. Biochim Biophys Acta. 2011; 1807: 1170–6
- Profil Kesehatan Indonesia, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2010
- Profil Kesehatan Jawa Barat, Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Barat Tahun 2007
- Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, dkk. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, Edisi VI ; Tahun 2010, Bab Demam Tifoid (halaman 549-555)
- Shashank Kumar and Abhay K. Pandey, Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: Hindawi Publishing Corporation, The ScientificWorld Journal, Volume 2013 ; Article ID 162750, 16 pages
- Soheil Zorofchian Moghadamtousi, Mehran Fadaeinasab, Sonia Nikzad, Gokula Mohan, Hapipah Mohd Ali and Habsah Abdul Kadir , *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities, International Journal of Molecular Sciences 2015 ; ISSN 1422-0067
- Yuniarti L, Purbaningsih W, Fauzan A, Maulifa U, Ananto Medical Faculty Bandung Islamic University TDMF. *Guardnerella vaginalis* ATCC 14018 Resistant to Metronidazol and Sorusup Leaves (*Annona muricata* linn). 2016;3(3):1-16