



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

Skripsi

disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

oleh

Sabrina Dwie Karunia

4311412029

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

2016

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

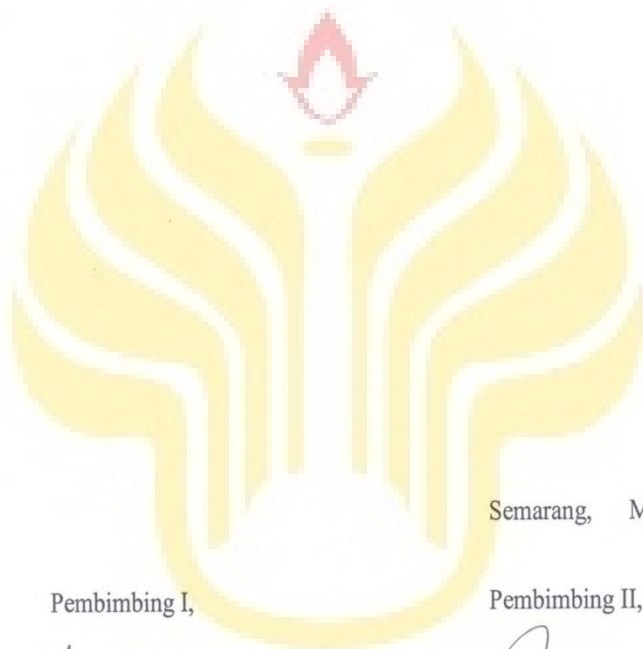


4311412029

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.



Semarang, Maret 2016

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Prof. Dr. Supartono, M.S

Dra. Woro Sumarni, M.Si

NIP.1195412281983031003

NIP.196507231993032001

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Analisis Sifat Antibakteri dari Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L) dengan Berbagai Pelarut Organik

disusun oleh

Sabrina Dwie Karunia

4311412029

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA Universitas Negeri Semarang pada tanggal 7 Maret 2016.

Panitia:



Ketua

Prof. Dr. ZAENURI, S.E, M.Si, Akt

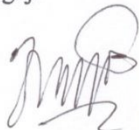
NIP. 196412231988031001

Sekretaris

Dr. Nanik Wijayati, M.Si

NIP. 196910231996032002

Ketua Penguji



Samuel Budi Wardhana Kusuma, S.Si.,M.Sc

NIP. 198204182006041002

Anggota Penguji/

Pembimbing I

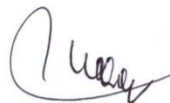


Prof. Dr. Supartono, MS

NIP. 195412281983031003

Anggota Penguji/

Pembimbing II



Dra. Woro Sumarni, M.Si

NIP. 196507231993032001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto

- ❖ Segala perkara dapat ku tanggung di dalam Dia yang memberi kekuatan kepadaku
- ❖ Jangan seorangpun menganggap engkau rendah karena engkau muda. Jadilah teladan dalam perkataan, dalam tingkah laku, dalam kasih dan dalam kesetiaan.

Persembahan

Kupersembahkan karya ini untuk:

1. *Ibu tercinta yang tak kenal lelah mengasihi, mencintai, dan selalu mendoakanku*
2. *Kedua adikku tersayang, Ega Carolina dan Debora Sharon yang selalu meberikan semangat*
3. *Keluarga UKK UNNES yang selalu ada dan selalu menemani di saat suka dan duka*
4. *Teman-teman kimia 2012 atas kebersamaan indah selama ini*

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena telah memberikan berkat dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Analisis Sifat Antibakteri dari Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L) dengan Berbagai Pelarut Organik”.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi tidak lepas dari dukungan, bantuan dan kerjasama berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan izin kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
2. Ketua Jurusan Kimia yang telah memberikan izin kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
3. Ketua Program Studi Kimia yang telah membantu dan membimbing dalam penyusunan skripsi.
4. Prof. Dr. Supartono, MS. Pembimbing I yang senantiasa sabar memberikan bimbingan, ilmu dan pengarahan kepada penulis.
5. Dra. Woro Sumarni, M.Si. Pembimbing II yang dengan bijaksana memberikan bimbingan, ilmu dan pengarahan kepada penulis.
6. Samuel Budi Wardhana Kusuma, S.Si.,M.Sc. Penguji yang telah memberikan ilmu, masukan dan pengarahan kepada penulis.
7. Segenap bapak dan ibu dosen Jurusan Kimia atas semua ilmu yang telah diberikan selama

8. Kepala Laboratorium Kimia Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan izin kepada penulis dalam melakukan penelitian di Laboratorium Kimia.
9. Teknisi dan laboran Laboratorium Kimia yang telah memberikan izin dan membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium Kimia.
10. Orang tua saya yang selalu mendoakan dan memberikan semangat.
11. Kimia 2012 yang selalu mendukung dalam kebaikan.

Demikian ucapan terimakasih dari penulis. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih ada kekurangan, baik dari segi teknik penulisan, penyusunan maupun tata bahasa yang digunakan. Oleh karena itu, penulis memohon maaf dan mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi sempurnanya skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat dan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan.



UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

Semarang, Maret 2016

Penulis

ABSTRAK

Karunia, S.D. 2016. *Analisis Sifat Antibakteri dari Ekstrak Biji Srikaya (Annona squamosa L) dengan Berbagai Pelarut Organik*. Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Prof. Dr. Supartono, M.S dan Dra. Woro Sumarni, M.Si.

Kata Kunci: Biji Srikaya, antibakteri, *S.aureus*, *E.coli*

Infeksi masih menjadi masalah kesehatan bagi kebanyakan masyarakat, baik di pedesaan maupun di kota. Hal ini dikarenakan masalah kebersihan atau lingkungan tempat tinggal mereka kurang mendapat perhatian dari pemerintah. Upaya untuk menanggulangi masalah itu adalah mencari obat antibakteri. Biji Srikaya (*Annona squamosa* L) merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak biji srikaya dengan berbagai pelarut organik serta mengetahui komponen senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstraksi dilakukan dengan metode soxhletasi dengan pelarut n-heksana, kloroform dan etanol. Kemudian uji fitokimia dilakukan dengan metode uji warna. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan variasi konsentrasi ekstrak yang diuji 0%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Daya hambat diukur berdasarkan besarnya diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan 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 sama sekali. Ekstrak kloroform dengan konsentrasi 100% memberikan zona bening terbesar terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan nilai Diameter Daerah Hambat berturut-turut 10 mm dan 9,5 mm. Pada ekstrak etanol dengan konsentrasi 100% memberikan zona bening terbesar terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan nilai Diameter Daerah Hambat berturut-turut 10,5 mm dan 17 mm. Analisis senyawa pada ekstrak etanol biji srikaya dengan FT-IR dan GC-MS. Senyawa ekstrak etanol yang diduga berperan sebagai antibakteri adalah *Hexadecanoic acid, methyl ester* (metil palmitat).

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

ABSTRACT

Karunia, S.D. 2016. *Analysis of Antibacterial Properties of Sugar Apple Seed Extract with a Variety of Organic Solvents*. Thesis. Department of Chemistry. Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Advisor I. Prof. Dr. Supartono, M.S. II. Dra. Woro Sumarni, M.Si.

Keywords: Sugar Apple Seed, antibacterial, *S.aureus*, *E.coli*

Infection still be a health problem for some people, whether in rural area or urban area. This is because of health problem or their neighborhood that get less attention from the government. The effort to overcome that problem is seeking an antibacterial. 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 S.aureus and E.coli and to determine compounds with antibacterial activity. The extraction method was soxhlet with hexanes, chlorofom and ethanol then werested with disk technique diffusion method with concentration of hexanes, chlorofom, ethanol extract were 0%, 25%, 50% 75% and 100%. 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 extractby 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 10,5respectively. 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.

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN.....	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
PENGESAHAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB	
BAB 1 : PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB 2 : TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Srikaya (<i>Annona squamosa L</i>).....	6
2.1.1. Sistematika Tanaman.....	6
2.1.2. Deskripsi Tanaman	6
2.1.3. Kandungan Kimia.....	8
2.1.4. Kegunaan	11
2.2. Bakteri.....	12
2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	14
2.3. Ekstraksi.....	16
2.4. Mekanisme Kerja Zat Antimikroba	22
2.5. Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba.....	24
2.6. Analisis Komponen Kimia.....	26
2.6.1. GC-MS	26
2.6.2. FTIR	28
BAB 3 : METODE PENELITIAN	
a. Variabel Penelitian	31
b. Prosedur Penelitian.....	31
i. Alat dan Bahan	31
c. Cara Kerja	32
i. Penyiapan Sampel	32
ii. Ekstraksi Biji Srikaya	33
iii. Pengujian Golongan Senyawa Aktif	33
iv. Pembuatan Media Agar Miring	35

v.	Uji Bakteri	35
	d. Metode Analisis Data	36
BAB 4 : HASIL DAN PEMBAHASAN		
	a. Persiapan Sampel Biji Buah Srikaya.....	37
	b. Ekstraksi Biji Srikaya.....	37
	c. Hasil Pengujian Golongan Senyawa Aktif.....	39
	d. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	42
	e. Uji Struktur dengan FTIR dan GCMS	47
	4.5.1 Analisis Struktur dengan FTIR	47
	4.5.2 Analisis Struktur dengan GCMS	49
BAB 5 :PENUTUP		
	a. Simpulan	55
	b. Saran	55
DAFTAR PUSTAKA		57
LAMPIRAN.....		63



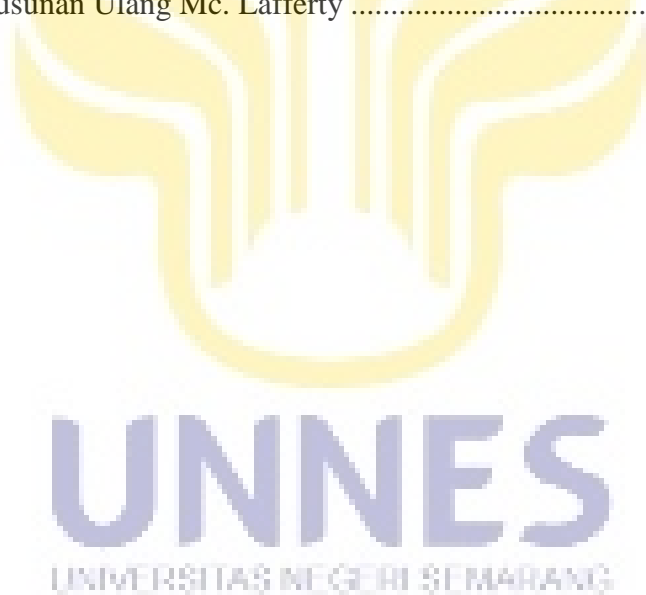
DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	12
2.2	Sifat Fisika dan Kimia Etanol	21
2.3	Sifat Fisika dan Kimia N-heksana.....	21
2.4	Identifikasi Gugus Fungsi FTIR	30
4.1	Hasil Ekstraksi Biji Buah Srikaya.....	39
4.2	Hasil Pengamatan Uji Fitokimia	41
4.3	Luas Daerah Hambat Pertumbuhan Koloni	43
4.4	Hasil Analisis Spektrum Inframerah.....	48
4.5	Komponen Senyawa Kimia Ekstrak Etanol.....	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Buah Srikaya	8
2.2 Biji Srikaya	9
2.3 Struktur Asetogenin	10
2.4 Struktur Senyawa Skuamosin	10
2.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.6 <i>Escherichia coli</i>	15
2.7 Instrumen dalam Metode <i>Soxhlet</i>	19
4.1 Reaksi Uji Dragendorff	41
4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol	44
4.3 Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	47
4.4 Spektrum FTIR Ekstrak Etanol Biji Srikaya	48
4.5 Kromatogram GCMS Ekstrak Etanol	49
4.6 Spektrum Massa Senyawa dalam Ekstrak Etanol	51
4.7 Perkiraan Fragmentasi Massa Senyawa Metil Palmitat	52
4.8 Penyusunan Ulang Mc. Lafferty	52



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja	63
2. Hasil Perhitungan	70
3. Dokumentasi Penelitian	71



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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 *et al.*, 1993). Resistensi terhadap beberapa antimikroba umumnya terjadi di rumah sakit, tempat yang paling banyak menggunakan antimikroba (Lisa, 2007).

Indonesia merupakan negara yang terletak di salah satu kawasan tropis dan kaya akan keanekaragaman jenis tumbuhan. Berbagai tumbuhan ini diantaranya bisa dimanfaatkan sebagai sumber bahan kimia alami yang potensial untuk dikembangkan menjadi zat warna, kosmetik, bahan baku industri dan bahan aktif pestisida (Kardinan, 2000). Selain itu juga bisa sebagai sumber ramuan obat tradisional. Kandungan senyawa kimia dari tumbuhan yang memiliki bioaktivitas umumnya terdapat sebagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid dan lain-lain.

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional akhir-akhir ini meningkat, bahkan beberapa bahan alam telah diproduksi secara fabrikasi dalam skala besar. Penggunaan obat tradisional dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan kimia, disamping itu harganya lebih terjangkau. Selain itu keuntungan lain penggunaan obat tradisional adalah bahan bakunya mudah diperoleh dan harganya yang relatif murah (Putri, 2010).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi untuk dikembangkan adalah *Annona squamosa* atau lebih dikenal dengan nama srikaya, tanaman dari spesies *Annonaceae*. Tanaman ini banyak ditemukan di dataran rendah hingga ketinggian kurang lebih 800 meter di atas permukaan laut dan banyak dibudidayakan di ladang serta di halaman rumah (Setiawati *et al.*, 2008).

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)

Selain itu, uji laboratorium yang dilakukan oleh Herminanto *et al.*, (2004) menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak biji srikaya sangat nyata mempengaruhi aktivitas makan ulat krop kubis *Crociodolomia Pavonana F.* Konsentrasi tertinggi (15 cc/l) nyata mengurangi selera makan serangga uji. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan kondisi tubuh ulat semakin lemah dan berakibat turunnya nafsu makan. Ini berarti bahwa biji srikaya mengandung squamosin yang mempengaruhi perilaku serangga dan dapat menghambat aktivitas makan serangga pada konsentrasi tinggi.

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.

Berdasarkan beberapa penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji srikaya mempunyai senyawa aktif annonain dan skuamosin yang merupakan golongan asetogenin memiliki efek toksisitas terhadap beberapa jenis serangga, hama, nyamuk, maupun organisme pengganggu lainnya.

Namun, sejauh ini belum pernah ditemukan penelitian yang menyatakan tentang sifat antibakteri dari ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa*). Hal ini yang mendorong peneliti untuk mengetahui lebih lanjut mengenai manfaat biji srikaya (*Annona squamosa*) sebagai antibakteri dengan penelitian yang berjudul “Analisis Sifat Antibakteri dari Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L) dengan Berbagai Pelarut Organik”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan hal-hal yang diungkapkan di atas, dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Komponen kimia apa saja yang teridentifikasi dalam ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L)?
2. Ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L) dengan pelarut apakah yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi?
3. Apakah ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L) mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dijelaskan maka dapat dirumuskan tujuan sebagai berikut :

1. Mengidentifikasi komponen kimia yang teridentifikasi dalam ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L).
2. Mengetahui pelarut organik yang memberikan ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L).
3. Mengetahui daya antimikroba ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah :

1. Memberikan wawasan pemanfaatan bahan-bahan alami dari tumbuhan sebagai antibakteri.
2. Memberikan pengetahuan dan informasi kandungan kimia ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L) sebagai salah satu tanaman obat dan memberikan informasi mengenai aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Srikaya (*Annona squamosa* L)

2.1.1 Sistematika Tanaman

Dalam sistematika tumbuhan (taksonomi) srikaya diklasifikasikan menurut Setiawati *et al.*, (2008) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Ranunculales
Suku : Annonaceae
Marga : *Annona*
Jenis : *Annona squamosa* L.

2.1.2 Deskripsi Tanaman

Srikaya merupakan tanaman pendatang yang berasal dari Amerika Latin yaitu Peru. Buah ini ditemukan oleh para pelaut pengelana dari Eropa. Oleh pelaut Inggris tanaman ini dinamai *sugar apple* atau *custard apple*, yang berarti berasa seperti puding yang berbentuk seperti apel (Pinto *et al.*, 2005).

Di Indonesia, srikaya (*Annona squamosa*) telah dikenal sejak zaman penjajahan Belanda dengan nama buah nona sri. Srikaya yang tersebar di Indonesia saat ini adalah srikaya lokal dan srikaya yang berasal dari luar negeri yang telah lama beradaptasi.

Annona squamosa adalah tumbuhan kecil dengan tinggi 3-7 meter, kulit pohon tipis, percabangan tidak beraturan, kulit kayu berwarna coklat muda dengan lentisel dan kulit kayu bagian dalam berwarna kuning cerah dan sedikit pahit, daun tunggal, bertangkai kaku, letaknya berseling. Helai daun berbentuk lanset atau lonjong lanset dengan panjang 6-17 x 3-6 cm, ujung dan pangkal daun runcing, dasar lengkung, tepi rata, berwarna hijau pucat pada kedua permukaannya, sedikit berambut, atau gundul. Rasanya pahit dan sedikit dingin. Panjang tangkai 0,4-2,2 cm (Orwa *et al.*, 2009).

Bunga bergerombol pendek menyamping dengan panjang sekitar 2,5 cm dengan jumlah 2-4 kuntum berwarna kuning kehijauan yang saling berhadapan pada tangkai kecil panjang berambut dengan panjang \pm 2 cm, tumbuh pada ujung tangkai atau ketiak daun. Daun bunga bagian luar berwarna hijau, ungu pada bagian bawah, membujur dengan panjang 1,6-2,5 cm, lebar 0,6-0,75 cm. Daun bunga bagian dalam sedikit lebih kecil atau sama besar. Terdapat banyak serbuk sari, bergerombol putih, panjang kurang dari 1,6 cm, putik berwarna hijau muda. Tiap putik membentuk semacam benjolan, panjang putik 1,3-1,9 cm dan lebar 0,6-1,3 cm yang tumbuh menjadi kelompok-kelompok buah (Wardhana *et al.*, 2004).

Buah majemuk berbentuk bola atau kerucut menyerupai jantung, permukaan berbenjol-benjol, warna hijau berbintik putih, penampang 5-10 cm, menggantung pada tangkai yang cukup tebal. Jika masak, anak buah akan memisahkan diri satu dengan yang lain, berwarna hijau kebiruan. Daging buah berwarna putih kekuningan dan terasa manis. Biji membujur di setiap karpel, berwarna coklat tua hingga hitam dengan panjang 1,3-1,6 cm (Orwa *et al.*, 2009). Gambar buah srikaya dapat ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Buah srikaya (*Annona squamosa L*)

2.1.3 Kandungan Kimia

Tanaman srikaya mengandung squamosin, asimisin, aterospermidin, lanuginosin, alkaloid tipe asporfin (anonain) dan bisbenziltetrahydroisokinolin (retikulin). Selain itu, pada organ-organ tumbuhan ditemukan senyawa sianogen (Taylor dan Francis, 1999); Riata dan Anindyajati, 2012).

Pada biji terkandung senyawa poliketida dan suatu senyawa turunan bistetrahidrofurana; asetogenin (skuamosin C, D, anonain, anonasin A, anonain I, IV, VI, VIII, IX, XVI, skuamostatin A, bulatasin, bulatasinon,

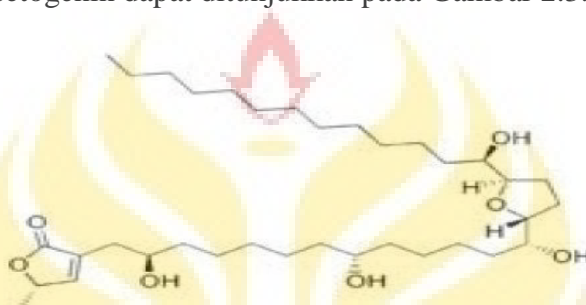
skuamon, neoanonin B, neo desasetilurarisin, neo retikulasin A, skuamosten A, asimisin, sanonasin, anonastatin, neoanonin), diterpen dan saponin. Isolasi dari biji didapati sekitar 30 jenis asetogenin seperti coumarinoligan, annotemoyin-1, annotemoyin-2, kolesterol, danglukopiranosida yang bersifat antimikobial dan sitotoksik (Anonim, 2011); Riata dan Anindyajati, 2012). Gambar biji buah srikaya ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Biji srikaya (*Annona squamosa* L)

Asetogenin merupakan senyawa kimia yang terkandung dalam bangsa *Annonaceae* yang berpotensi memiliki aktivitas antikanker, parasitidal, dan antimikroba (Pardhasaradhi, 2004). Asetogenin merupakan senyawa poliketida dengan struktur 30 – 32 rantai karbon tidak bercabang yang terikat pada gugus *5-methyl-2-furanone* (Gambar 2.3). Rantai *furanone* dalam gugus *hydrofuranone* pada C-23 memiliki aktivitas sitotoksik. Derivat asetogenin yang berefek sitotoksik antara lain asmicin, bulatacin, dan squamocin (Shiddiqi, 2008). *Annonaceous* asetogenin bekerja dengan menghambat produksi ATP dengan mengganggu kompleks 1 mitokondria (Pardhasaradhi, 2004). Dua *Annonaceous* acetogenin yang

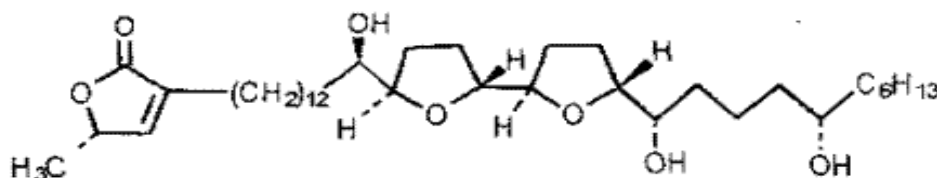
(squamostatin-C dan squamostatin-D) berhasil diisolasi dari ekstrak biji *Annona squamosa* (Gajalakshmi, 2011). Squamocins-B-toN, coumarinoligans, annotemoyin-1, annotemoyin-2, dan squamocin merupakan beberapa senyawa asetogenin yang diisolasi dari biji dan mempunyai aktivitas antimikroba dan antikanker (Pandey, 2011). Gambar struktur asetogenin dapat ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Struktur Asetogenin

(Sumber: McLaughlin *et al.*, 2008)

Menurut Leatemia dan Isman (2001) senyawa bioaktif yang terdapat di dalam ekstrak biji srikaya yaitu annonain dan skuamosin yang termasuk dalam golongan asetogenin (*annonaceous acetogenins*). Senyawa tersebut telah banyak diteliti dan dilaporkan bersifat sebagai insektisida, akarisisida, antiparasit dan bakterisida (Guadano *et al.*, 2000). Gambar struktur senyawa skuamosin dapat ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Struktur senyawa skuamosin

Golongan senyawa lain dalam srikaya yang mempunyai aktivitas sebagai antikanker adalah alkaloid dan flavonoid. Rahayu *et al.*, (1993) menyatakan bahwa golongan alkaloid dari tanaman srikaya mengandung senyawa benzil-tetrahidroisokuinolon, salah satunya liriodenim yang bersifat sebagai antitumor. Himesh *et al.*, (2011) mengisolasi flavonoid dari ekstrak metanol tanaman srikaya. Flavonoid mampu menghambat pertumbuhan dan menginduksi apoptosis dari sel B16 melanoma 4A5 (Iwashita *et al.*, 2000).

2.1.4 Kegunaan

Berbagai bagian tumbuhan srikaya di Indonesia, seperti daun, akar, buah, kulit batang, dan biji, digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Misalnya, daun tumbuhan ini digunakan untuk mengatasi encok, batuk, sesma, demam, rematik, gangguan saluran pencernaan seperti diare, disentri dan penyakit kulit seperti borok, luka, bisul kudis, ekzema serta menurunkan kadar asam urat yang tinggi dalam darah. Biji *Annona squamosa* digunakan untuk pengobatan gangguan pencernaan dan cacingan. Buah, akar dan kulit tumbuhan ini digunakan pula untuk gangguan pencernaan (Ahmad, 2007). Selain itu, daun srikaya dapat digunakan sebagai astringen, antiradang, antelmintik, antifertilitas, zat pemicu pematangan bisul dan antitumor (Dalimarta, 2003).

2.2 Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme yang bersel satu, tidak beklorofil, berbiak dengan pembelahan diri yang hanya tampak dengan mikroskop. Ukuran bakteri bervariasi baik penampang maupun panjangnya, tetapi pada umumnya penampang bakteri adalah sekitar 0,7 -1,5 μm dan panjangnya sekitar 1-6 μm (Hadioetomo, 2005).

Pada pengecatan gram bakteri digolongkan menjadi 2 golongan, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Perbedaan antara bakteri gram positif dan gram negatif didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Beberapa Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15-80 nm) Berlapis tunggal (mono)	Tipis (10-15 nm) Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%). Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel bakteri	Kandungan lipid tinggi (11-22%). Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam; jumlahnya sedikit, merupakan sekitar 10% berat kering.
Kerentanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Tidak ada asam tekoat Kurang rentan
Pertumbuhan dihambat oleh zat-zat warna dasar, misalnya ungu kristal	Pertumbuhan dihambat dengan nyata	Pertumbuhan tidak begitu dihambat
Persyaratan nutrisi	Relatif rumit pada banyak spesies	Relatif sederhana
Resistensi terhadap gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten

(Hadioetomo, 2005)

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Divisi	: Protophyta atau Schizophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Micrococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

(Atikah, 2013)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, tidak mempunyai spora, tidak bergerak dan berdiameter 0,7-1,2 μm . Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau (Jawetz *et al.*, 1995).



Gambar 2.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen gram positif yang mudah tumbuh pada kebanyakan medium bakteriologis dalam

keadaan aerob maupun anaerob fakultatif. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan berbagai penyakit pada manusia dan hewan. Kemampuan dalam menyebabkan suatu penyakit tersebut berhubungan dengan beberapa faktor termasuk ekstraseluler enzim dan racun (Nasser M. *et al.*, 2007). Hal ini disebabkan karena kemampuan *S. aureus* yang mudah beradaptasi dengan lingkungannya melalui ketahanannya terhadap antimikrobia yang dimiliki.

Bakteri ini terutama ditemukan pada kulit, kelenjar kulit, selaput lendir, luka, umumnya merupakan penyebab radang tenggorokan serta infeksi kulit (bisul), infeksi sistem syaraf pusat dan paru-paru (Ernawati, T. *et al.*, 2005) dan termasuk bakteri penyebab gastroenteritis (penyakit perut). Gejala gastroenteritis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah tiba-tiba dan muntah hebat sampai 24 jam (Ambarwati, 2007).

2.2.2 *Escherichia coli*

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* sebagai berikut :

Divisio : Protophyta

Subdivisio : Schizomycetea

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

(Widyarto, 2009)

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek dengan panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz *et al.*, 1995).



Gambar 2.6. *Escherichia coli*

Secara umum *Escherichia coli* ada dalam usus besar manusia dan hewan berdarah panas, tetapi dapat bersifat patogen dengan menimbulkan bermacam-macam penyakit bila imunitas tubuh secara umum rendah. *Escherichia coli* telah bertahun-tahun diduga sebagai penyebab penyakit diare pada manusia dan hewan. Hal ini disebabkan oleh kemampuan bakteri *Escherichia coli* memproduksi toksin yang dapat menyebabkan peradangan dan kehilangan cairan (Volk & Wheeler, 1993).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan komponen-komponen dari suatu bahan dimana komponen yang diinginkan akan larut

ke dalam pelarut yang dipakai sedangkan komponen yang tidak larut akan tertinggal di dalam bahan. Hasil ekstraksi (simplisia) yang diperoleh bergantung pada kandungan ekstrak yang terdapat pada bahan tersebut dan jenis pelarut yang digunakan. Hal-hal yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, kapasitas, kemudahan pelarut tersebut diuapkan. Dalam proses ekstraksi terdapat suatu prinsip kelarutan yang harus diperhatikan yaitu “like dissolve like”. Maksud dari prinsip tersebut ialah (1) pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa non-polar, (2) pelarut organik akan melarutkan senyawa organik (Khopkar, 1990); Yunita, 2004).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua cara yaitu cara dingin dan cara panas (Depkes RI, 2000).

1. Cara dingin

- a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cara ini dapat

menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan panas.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak). Ekstraksi ini membutuhkan pelarut yang lebih banyak.

2. Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

d. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

e. Dekok

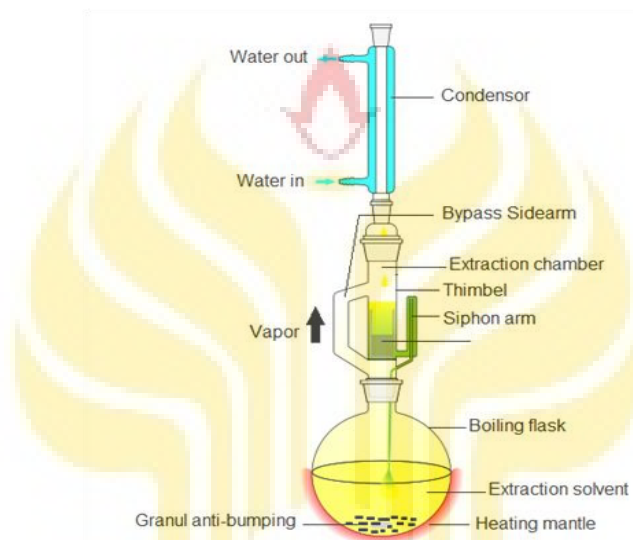
Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air.

Metode ekstraksi yang umum untuk mengekstrak bahan antibakteri alami ialah ekstraksi dengan metode *soxhlet*. Tujuan metode ekstraksi ini ialah mengeluarkan bahan yang diinginkan dari sel-sel yang terkandung dalam bahan dengan proses difusi. Hasil ekstraksi yang diperoleh dari proses ini dipengaruhi oleh suhu, pH, ukuran bahan yang akan diekstraksi dan gerakan pelarut yang terjadi di sekitarnya (Darwiati, 2009).

Metode soxhletasi mempunyai kelebihan dibandingkan dengan metode lain, kelebihan tersebut antara lain:

1. Sampel dapat terekstraksi dengan senyawa secara sempurna, karena dalam metode ini penyarian dilakukan secara berulang-ulang atau secara kontinu.

2. Menggunakan pelarut yang tidak banyak dan pelarut yang digunakan tersebut tidak habis (karena penyarian yang digunakan beberapa kali) dan dapat digunakan lagi setelah hasil isolasi digunakan.
3. Proses ekstraksi cepat.



Gambar 2.7 Instrumen dalam Metode Soxhlet

Keanekaragaman senyawa yang dapat diekstraksi biasanya membutuhkan serangkaian ekstraksi yang hasilnya memberikan ciri awal komposisinya. Adapun hal-hal yang mempengaruhi kandungan zat ekstraktif dalam tanaman di antaranya adalah umur, tempat tumbuh, genetik, jenis pelarut yang digunakan dan kecepatan pertumbuhan (Fengel dan Wegener, 1995); Darwiati, 2009).

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan proses ekstraksi adalah jenis dan mutu pelarut yang digunakan. Pelarut yang baik, harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

1. Harus dapat melarutkan semua zat dalam ekstrak dengan cepat dan sempurna dan sedikit mungkin melarutkan bahan seperti lilin, pigmen, senyawa albumin serta pelarut harus bersifat selektif.
2. Pelarut harus mempunyai titik didih yang cukup rendah, agar pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi.
3. Pelarut tidak mudah larut dalam air.
4. Pelarut harus bersifat “inert”, sehingga tidak bereaksi dengan komponen ekstrak.
5. Pelarut harus mempunyai titik didih yang seragam, sehingga jika diuapkan tidak akan tertinggal dalam ekstrak.
6. Harga pelarut harus serendah mungkin dan,
7. Pelarut tidak mudah terbakar.

Beberapa jenis pelarut yang biasa dipergunakan dalam proses ekstraksi antara lain petroleum eter, benzena dan alkohol.

Etanol disebut juga etil alkohol yang dipasaran dikenal sebagai alkohol merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH . Dalam kondisi kamar, etanol berwujud cairan yang mudah terbakar, mudah menguap, tak berwarna. Sifat fisika dan sifat kimia etanol dapat ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Sifat Fisika dan Kimia Etanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	C_2H_5OH
Massa molekul relative	46,07 g/mol
Titik leleh	-114,3 °C
Titik didih	78,32 °C

Densitas pada 20 °C	0,7893 g/cm ³
Kelarutan dalam air 20 °C	sangat larut
Viskositas pada 20 °C	1,17 Cp
Kalor spesifik pada 20 °C	0,579 kal/g°C

(Sumber: Rizani, 2000)

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C₆H₁₄. Awalan *heks-* merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari *alkana*, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air. Sifat fisika dan kimia n-heksana ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Sifat Fisika dan Kimia n-heksana

Karakteristik	Syarat
Bobot molekul	86,2 g/mol
Warna	Tak berwarna
Wujud	Cair
Titik lebur	-95 °C
Titik didih	69 °C (pada 1 atm)
Densitas	0,6603 gr/ml pada 20 °C

(Sumber: Kastianti dan Amalia, 2008)

Kloroform merupakan jenis pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi. Senyawa terpenoid sangat baik jika diekstraksi menggunakan pelarut dengan kepolaran yang rendah seperti kloroform.

Pada penelitian, proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode soxhletasi yaitu dengan menggunakan alat *soxhlet*. Pelarut yang digunakan harus sesuai dengan jenis zat yang digunakan. Senyawa polar harus dapat larut dalam pelarut polar, begitu juga dengan senyawa non

polar akan larut dalam pelarut non polar. Proses soxhletasi dilakukan secara kontinyu yaitu dengan menggunakan pelaut n-heksana kemudian dilanjutkan dengan pelarut kloroform lalu dilanjutkan dengan pelarut etanol.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah srikaya. Ekstraksi biji buah srikaya dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut organik yaitu etanol, kloroform dan n-heksana.

Ekstrak yang diperoleh dalam penelitian diidentifikasi antibakterinya dengan uji daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S. aureus*. Jika terbentuk zona bening pada media uji, maka ekstrak bersifat antibakteri. Semakin lebar zona bening yang ditimbulkan, semakin efektif sebagai senyawa antibakteri.

2.4 Mekanisme Kerja Zat Antibakteri

Zat antibakteri adalah suatu zat yang digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Ngaisah (2010) mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri adalah :

1. Kerusakan pada Dinding Sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubah setelah selesai terbentuk. Contoh : antibiotik jenis penisilin dan sefalosporin.

2. Perubahan Permeabilitas Sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lainnya dan memelihara keseluruhan sel. Perubahan pada membran sitoplasma dapat berakibat terhambatnya pertumbuhan sel sehingga menyebabkan kematian sel. Contoh : antibiotik jenis polimiksin B dan amfoterisin.

3. Perubahan Molekul Protein dan Asam Nukleat

Kehidupan sel bergantung pada pemeliharaan molekul protein dan asam nukleat. Antibakteri dapat mengakibatkan koagulasi protein atau denaturasi bahan-bahan sel yang penting. Contoh : antibiotik jenis tetrasiklin dan streptomisin.

4. Penghambatan Kerja Enzim

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel dan merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Contoh : antibiotik jenis kloramfenikol dan metafen.

5. Penghambatan Sintesis Asam Nukleat dan Protein

Protein, DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti gangguan apapun yang terjadi pada zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel. Contoh : antibiotik jenis norfosaksin dan sulfanilamida.

2.5 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri ditentukan oleh spektrum kerja (spektrum luas, spektrum sempit), cara kerja (bakterisidal atau bakteriostatik) dan

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) serta potensi pada KHM. Suatu antibakteri dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi apabila KHM terjadi pada kadar antibiotik yang rendah tetapi mempunyai daya bunuh atau daya hambat yang besar.

Menurut Ngaisah (2010) metode yang umum digunakan untuk menguji daya antibakteri adalah :

1. Metode Difusi terdiri dari metode sumuran (perforasi) dan metode cakram kertas.

Metode Sumuran (Perforasi)

Bakteri uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45°C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm. Kedalam lubang tersebut dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20µL, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi.

Metode Cakram Kertas

Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam cakram kertas dengan cara meneteskan pada cakram kertas kosong larutan antimikroba sejumlah tertentu dengan kadar tertentu pula. Cakram kertas diletakkan diatas permukaan agar padat yang telah diolesi bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari daerah hambat di sekeliling cakram kertas.

2. Metode Dilusi terdiri dari metode pengenceran tabung dan metode pengenceran agar.

Metode Pengenceran Tabung

Antibakteri disuspensikan dalam agar *Tryptic Soy Broth* (TSB) dengan pH 7,2-7,4 kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan beberapa tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri uji yang telah disuspensikan dengan NaCl fisiologis steril atau dengan TSB, yang tiap mililiternya mengandung kurang lebih 10^5 - 10^6 bakteri. Setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang bening menunjukkan zat antibakteri yang bekerja.

Metode Pengenceran Agar

Zat antimikroba dicampur sampai homogen pada agar steril yang masih cair dengan suhu terendah mungkin ($\pm 45^\circ\text{C}$) dengan menggunakan berbagai konsentrasi aktif, larutan tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian setelah memadat dioleskan bakteri uji pada permukaannya.

2.6 Analisis Komponen Kimia dengan GC-MS dan FTIR

2.6.1 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

GC-MS merupakan alat untuk penentuan struktur molekul senyawa organik, khususnya untuk senyawa organik yang cukup volatil. Bahkan, beberapa senyawa yang memiliki titik didih cukup tinggi, seperti minyak

dengan asam lemak rantai panjang dapat dianalisis langsung dengan GC-MS.

Gas Chromatography (GC) dan *Mass Spectrometry* (MS) sangat *compatible* (cocok), karena senyawa yang keluar dari kolom GC berupa gas atau uap dan yang dibutuhkan oleh MS juga senyawa dalam fasa uap. Banyak senyawa volatil yang dapat dianalisis dengan GC-MS tanpa bantuan spektroskopi lainnya (Panji, 2012).

Gas Chromatography merupakan metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang rumit. Waktu yang dibutuhkan beragam, mulai dari beberapa detik untuk campuran sederhana sampai berjam-jam untuk campuran yang mengandung 500-1000 komponen (Schwartzing *et al.*, 1991). Keuntungan dari *gas chromatography* adalah mudah dijalankan dan mudah dipahami. Penafsiran data yang diperoleh cepat dan langsung, serta mudah dan harganya lebih murah (Bonelli & McNair, 1991). Dalam *gas chromatography* terdapat enam bagian utama yaitu gas pembawa, sistem injeksi, kolom, fase diam, suhu, dan detektor.

Spektrometer mampu menganalisis cuplikan yang jumlahnya sangat kecil dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur dan identitas senyawa organik. Jika eluen dari *gas chromatography* diarahkan ke spektrofotometer masa, maka didapatkan struktur untuk masing-masing puncak pada kromatogram (Schwartzing *et al.*, 1991).

Proses yang terjadi di dalam *spektrometer massa* (MS) adalah volatilisasi (proses yang memudahkan zat menguap), bila senyawa atau

contoh dimasukkan ke dalam alat MS sebagian berubah jadi uap. Uap tersebut dilewatkan suatu celah (A) dan masuk ke dalam ruang yang ada filamen yang menghasilkan berkas elektron dengan energi. Di dalam ruang penembakan atau kamar pengion (*ion chamber*) dapat terjadi ion molekul (terjadi akibat ionisasi) dan ion fragmen (terjadi akibat fragmentasi), fragmen yang dapat dideteksi hanya fragmen bermuatan positif (+). Semua ion – ion positif ini dilewatkan pada celah B dengan jalan memberikan perbedaan tegangan antara celah A dan celah B sehingga ion akan bergerak ke celah B. Antara celah B dan celah C ada perbedaan tegangan, dengan tegangan ± 8.000 volt. Ion yang keluar dari celah C akan masuk ke analisator. Analisator yang digunakan adalah analisator magnet (*magnetic analyzer*). Dari *magnetic analyzer*, ion melewati beberapa celah kolektor. Ion yang berhasil melalui celah tersebut akan membentur dinding kolektor dan isyarat yang timbul diperkuat dengan pelipat-ganda elektron (*electron multiplier*). Adanya arus elektron akan menyebabkan adanya gerakan pada galvanometer. Pada alat MS biasanya digunakan 3-6 galvanometer (terlihat pada jumlah garis spektrum yang dihasilkan). Gerakan tersebut akan tercatat pada rekorder (Panji, 2012).

Sistem pemasukan cuplikan dari metode spektroskopi massa dapat berasal dari *gas chromatography*, sehingga gabungan dari kedua alat ini sering disebut GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectroscopy*). Penggunaan *gas chromatography* dapat dipadukan dengan *Mass*

Spectroscopy, paduan keduanya dapat menghasilkan data yang lebih akurat dalam pengidentifikasian senyawa dan struktur molekulnya.

2.6.2 Spektrofotometer Infra Merah (IR)

Spektrofotometer Infra Merah (IR) adalah suatu alat yang digunakan untuk mengukur radiasi infra merah pada berbagai panjang gelombang. Spektrum IR adalah jumlah radiasi IR yang diteruskan melalui cuplikan sebagai fungsi frekuensi (panjang gelombang) radiasi. Bila radiasi IR dilewat pada sebuah cuplikan, maka molekul-molekulnya dapat menyerap dan terjadilah transisi diantara tingkat vibrasi dasar (*groundstate*) dan tingkat vibrasi tereksitasi (*excited state*).

Bila suatu molekul menyerap radiasi inframerah, energi yang diserap menyebabkan kenaikan dalam amplitudo getaran atom-atom yang terikat. Energi yang diserap ini akan dibuang dalam bentuk panas bila molekul itu kembali ke keadaan dasar. Dengan demikian spektrofotometri IR dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya gugus fungsi dalam suatu molekul (Supratman, 2010).

Spektra inframerah menunjukkan serapan yang dihubungkan dengan sistem vibrasi yang berinteraksi di dalam molekul. Sistem vibrasi setiap molekul mempunyai karakteristik yang unik sehingga pada spektrum juga memberikan pita-pita serapan yang karakteristik. Letak pita dalam spektrum inframerah disajikan sebagai bilangan gelombang dengan satuan cm^{-1} . Hal ini dikarenakan bilangan gelombang secara langsung berbanding lurus dengan energi vibrasi. Daerah inframerah terletak antara spektrum

elektromagnetik cahaya *visible* dan spektrum radio, yakni antara 4000-400 cm^{-1} (Sastrohamidjojo, 2007).

Spektrofotometri inframerah memungkinkan identifikasi gugus fungsional karena gugus fungsi tersebut menunjukkan serapan yang spesifik pada daerah inframerah. Spektrum inframerah khas untuk senyawa tertentu sehingga metode ini tepat untuk menentukan struktur senyawa yang belum dikenal yaitu dengan cara membandingkannya dengan senyawa yang sudah diketahui dan menggunakan tabel korelasi. Sangat jarang dua senyawa organik yang berbeda memiliki spektrum inframerah yang identik baik dalam posisi maupun intensitas puncak-puncaknya (Supratman, 2010).

Gugus fungsi yang dapat teridentifikasi menggunakan spektroskopi FTIR dapat ditunjukkan pada Tabel 2.4.

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

Tabel 2.4 Identifikasi Gugus Fungsi FTIR

Gugus	Jenis Senyawa	Bilangan Gelombang (cm^{-1})
C-H	Alkana	2850-2900, 1350-1470
C-H	Alkene	3020-3080, 675-870
C-H	Aromatik	3000-3100, 675-870
C-H	Alkana	3300
C=C	Alkena	1640-1680
C=C	Aromatik	1500-1600
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1080-1300
C=O	Aldehida, keton, asam karboksilat, ester	1690-1760

O-H	Alkohol, fenol (monomer)	3610-3640
O-H	Alkohol, fenol (ikatan H)	2000-3600 (lebar)
O-H	Asam karboksilat	3000-3600 (lebar)
N-H	Amina	3310-3500
C-N	Amina	1180-1360
NO ₂	Nitro	1515-1560, 1345- 1386

(Sastroamidjojo dalam Ayu, 2014)



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini ada 3 macam variabel yaitu :



BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

1. Komponen kimia yang teridentifikasi dalam ekstrak biji buah srikaya (*Annona squamosa* L) yaitu *2,4-Thiazolidinedione*, *3-Allyl-6-methoxyphenol*, *Metil palmitat*, *9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester*.
2. 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 klorofom terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
3. Aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada ekstrak n-heksana tidak menunjukkan aktivitas penghambatan sama sekali. Pada ekstrak klorofom dengan konsentrasi 100% memberikan zona bening terbesar pada bakteri *E.coli* dan *S.aureus* masing-masing 9,5 mm dan 10 mm. Sedangkan pada ekstrak

etanol dengan konsentrasi 100% memberikan zona bening terbesar masing-masing 17 mm dan 10,5 mm.

5.2 Saran

1. Perlu adanya penelitian lanjut untuk menentukan struktur dari isolat menggunakan metode KLT.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk memanfaatkan biji buah srikaya sebagai antimikroba selain pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.



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*. Jurnal: Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong.
- Ahmad, S. A. 2007. Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia, 43-44, 63-64 ITB Press, Bandung.
- Ambarwati. 2007. *Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mamba (Azadirachta indica) untuk Menghambat Pertumbuhan Salmonella thyposa dan Staphylococcus aureus*. Biodiversitas. 8(3) : 320-325.
- Anonim. 2015. Perbedaan Antara Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Tersedia di <http://laboratoryinfo.blogspot.co.id/2015/07/perbedaan-antara-bakteri-gram-positif.html> [diakses 14-02-2016]
- Asghar, S., Rehman, M.I. Choudahry, and Rahman. 2011, Gas Chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis of petroleum ether extract (oil) and bio-assays of crude extract of *Iris germanica*, I. J. Of Genetics and Molecular Biology 3 (7): 95-100, <http://www.academicjournals.org/ijgmb>
- Astarina, N.W.G., K.W. Astuti, & N.K. Warditiani. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb*). *Jurnal Farmasi Udayana*
- Atikah, N. 2013. *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (Ocimum americanum L) terhadap Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. Skripsi. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

- 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) : 2252-6951
- Bonelli, E. J & McNair, H. M. 1991. *Dasar Kromatografi Gas*. Bandung : Penerbit ITB.
- Candrasari, A., Rahman, D. T., Sutrisna, E.M., 2012. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etil Asetat dan Klorofom Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 secara In Vitro. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta*. Surakarta.
- Dalimarta, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, jilid III, Puspa Swara, Jakarta.
- Darmadi, H. 2013. *Metode Penelitian Pendidikan dan Sosial*. Bandung : Alfabeta.
- Darwiati, W. 2009. *Uji Efikasi Ekstrak Tanaman Suren (Toona sinensis Merr) Sebagai Insektisida Nabati Dalam Pengendalian Hama Daun (Eurema Spp. Dan Spodoptera litura F.)*. Skripsi Institut Pertanian Bogor.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional : Jakarta. Hal 1, 9-12.
- Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. 2008. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia 1 jilid I*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Ernawati, K., T. Yulinery, R. Hardiningsih, E. Triana, & R.N.R. Napitupulu. 2005. *Daya Anti Staphylococcus aureus dari Fermentasi Daun Beberapa Jenis Tumbuhan Obat*. *J.Biol. Indon*. III, (9) : 397-404
- Gajalakshmi, K. & Ruban, P. 2011. Invitro Antibacterial Activity of Hibiscus rosa-sinensis Flower Extract Againsts Human Pathogens, *Aslan Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 399-403.
- Guadano, A., C. Gutierrez, E. De La Pena, D. Cortez and G.A. Coloma. 2000. Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous acetogenins. *J. Nat. Prod.* 63: 773-776.
- Hadioetomo, R. S. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

- Hafiz, M. 2015. *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Kulit Nanas Kering dan Basah*. Skripsi. Semarang : Universitas Negeri Semarang.
- Hermianto, W. dan T. Sumarsono. 2004. *Potensi Ekstrak Biji Srikaya (Annona squamosa L.) untuk Mengendalikan Ulat Krop Kubis Crocidolomia Pavonana F.* Purwokerto: Fakultas Pertanian UNSOED.
- Himesh, Soni., Sharan, Patel Sita., K. Mishra., Govind, Nayak., AK Singhai., 2011. Preliminary Phytochemical Screening and HPLC Analysis of Flavonoids from Methanolic Extract of Leaves of *Annona squamosa*, *IRJP*, 2 (5), 242-246
- Iwashita, K., Kobori, M., Yamaki, K. & Tsushida, T., 2000. Flavonoids Inhibit Cell Growth and Induce Apoptosis in B16 Melanoma 4A5 Cells, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64 (9), 1813-1820
- Jawetz, E, Melnick, J. L, Adelberg, E. A, Brooks, G. F, Butel, J. S & Ornston, L. N. 1995. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 20. Terjemahan Nugroho & R. F Maulany. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz, Melnick, Adelberg., 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 22*. Penerjemah Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta. Salemba Medika.
- Kardianan, A. 2000. *Pestisida Nabati Ramuan dan Aplikasi*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Kastianti, N. dan Amalia, Z.Q. 2008. *Laporan Penelitian Pengambilan Minyak Atsiri Kulit Jeruk dengan Metode Ekstraksi Distilasi Vakum*. Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Undip.
- Laetamia, J.A. and M.B. ISMAN, 2001. Crude seed extract of *Annona squamosa* (Annonaceae) as a potential botanical insecticide. Faculty of Agricultural Sciences. Main Mall. University of British Columbia. Vancouver. BC. Canada. *Plant.Sci.* 248-2357.
- Lisa, N. 2007. Uji Aktivitas In Vitro Levofloksasin Terhadap Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Resisten Multiobat Di RSUD Dr. Soetomo Surabaya: Isolat dari Pasien Infeksi Kulit dan Infeksi Saluran Kemih. [Skripsi], Fakultas Kedokteran UNAIR Surabaya.
- Mangunwardoyo, W., Cahyaningsih, E., Usia, T., 2008. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). *Jurnal Obat Bahan Alam* Vol.7 (1). Jakarta.

- Marliana, S.D., V. Suryanti, & Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-31.
- McLaughlin. 2008. *Paw-paw and Cancer Annonaceous Acetogenin from Discovery to Comercial Products*, Department of Medicinal Chemistry and Molecular Pharmacology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Purdue University, 71(7):1311-1321
- Nasser M. E., Samar S. Q & Hitham D. 2007. *Antimicrobial Substances Produced by Bacteria Isolated From Different Jordanian sources that are Active Against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. *African Journal of Biotechnology*. 6 (15), pp. 1837-1839.
- Ngaisah. 2010. *Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (Piper crocoatum Ruiz & Paw)*. Skripsi. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- Noviyanti, L. 2010. Modifikasi Teknik Kromatografi Kolom untuk Pemisahan Trigliserida dari Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.), *Skripsi*, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, <http://eprints.uns.ac.id/389/1/168090609201010021.pdf>
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R.& Anthony,S.2009. *Annona squamosa* L. Agroforestry Database 4.0
- Padmini, E.A., Valarmathi, A., and Rani, M.U., 2010. Comparative Analysis of Chemical Composition and Antibacterial Activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis*. *Asian J. Exp. Biol. Sci*, 1 (4) : 772 – 781, <http://www.ajebs.com/vol-4/9a.pdf>
- Pandey, Neha., Dushyant Barve., 2011. Phytochemical and Pharmacological Review on *Annona squamosa* Linn, *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol. 2(4), 1404-1412.
- Panji, T. 2012. *Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Pardhasaradhi. 2004. Antitumor Activity of *Annona squamosa* seed Extract is Trough The Generation of Free Radicals and Induction of Apoptosis, *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, Vol 41, 167-172
- Pelezar, Michael, J., E.C.S Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jakarta : UI Press.

- Pinto, A. C. de Q., M. C. R. Cordeiro., S. R. M. de Andrade, F. R., Ferreira, H. A. de C. Filgueiras., R. E. Alves and D. I. Kinpara. 2005. *Annona Species. International Centre for Underutilised Crops*. University of Southampton.
- Putri, Z.F. 2010. *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih (Piper betle L.) terhadap Propionibacterium acne dan Staphylococcus aureus multiresisten* (skripsi). Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Rahayu, M. S., K. Wiryoendjoyo., A Prasetyo. 1993. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Soxhletasi dan Maserasi Buah Makasar terhadap Bakteri *Shigella dysentriae* ATCC 9361 secara *in vitro*. Biomedika, 2, 1, 40-46.
- Riata, R. dan Anindyajati. 2012. Srikaya : *Annona squamosa* L. diakses dari <http://www.crc.farmasi.ugm.ac.id>, pada tanggal 12 Mei 2015.
- Rizani, K. Z. 2010. *Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi dan Inokulum (Saccharomyces cerevisiae) pada Proses Fermentasi Sari Kulit Nanas (Ananas comosus L.Merr) untuk Produksi Etanol*. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Robinson, Trevor., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi (The Organic Constituents of Higher Plants)*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung. Penerbit ITB.
- Salni, Marisa, H; Mukti, R. W., 2011. *Isolasi Senyawa Antibakteri dari Daun Jengkol (Pithecolobium lobatum Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya*. Sumatera Selatan. Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Sriwijaya.
- Sastohamidjojo, H. 2007. *Dasar-Dasar Spektroskopi*, edisi kedua, cetakan kedua. Penerbit Liberty: Jogjakarta
- Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Bandung : Penerbit ITB.
- Setiawati, W., R. Murtiningsih., N. Gunaeni, dan T. Rubiati. 2008. *Tumbuhan Bahan Pestisida Nabati dan Cara Pembuatannya untuk Pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT)*. Prima Tani. Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- Shahnaz, M., Bhai, P. K. R., 2013. Synthesis, Characterization of 2,4-Thiazolidinedione Derivatives and Evaluation of Their Antioxidant Activity. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 3 (6), 96-101.

- Shiddiqi, Toumi, dkk. 2008. Potensi In Vitro Zat Sitotoksik Antikanker Daun Tanaman Kepel (*Stelecocharpus buharol*) Terhadap Carcinoma Colorectal, *Karya Tulis Ilmiah*, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Supratman, U. 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Widya Padjadjaran. Bandung.
- 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.
- Widyarto, A. N. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (Citrus nobilis Lour) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Skripsi. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Yunita, F.C. 2004. *Ekstraksi Daging Biji Picung (Pangium edule Reinw) dan Uji Toksisitas Terhadap Artemia salina Leach*. Skripsi Institut Pertanian Bogor.