

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Tanaman herbal merupakan tanaman yang biasa digunakan sebagai bahan obat tradisional seperti jamu. Salah satu tanaman herbal yang digunakan sebagai obat yaitu daun sirsak (*Annona muricata* L.). Adapun klasifikasi tanaman sirsak menurut Tjitrosoepomo (1991) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatopyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dikotil
Sub Kelas	: Dialypetalae
Ordo	: Ranales
Famili	: Annonaceae
Genus	: Annona
Spesies	: <i>Annona muricata</i> Linn

Tanaman sirsak termasuk tanaman tahunan yang dapat tumbuh dan berbuah sepanjang tahun, apabila air tanah mencukupi selama pertumbuhannya. Di Indonesia tanaman sirsak menyebar dan tumbuh baik mulai dari daratan rendah beriklim kering sampai daerah basah dengan ketinggian 1.000 meter dari permukaan laut (Radi, 1998).

Daun sirsak berwarna hijau muda sampai hijau tua memiliki panjang 6-18 cm, lebar 3-7 cm, bertekstur kasar, berbentuk bulat telur, ujungnya lancip pendek, daun bagian atas mengkilap hijau dan gundul pucat kusam di bagian bawah daun, berbentuk lateral saraf. Daun sirsak memiliki bau tajam menyengat dengan tangkai daun pendek sekitar 3-10 mm. (Radi, 1998).

Daun sirsak yang berkualitas adalah daun sirsak dengan kandungan antioksidan yang tinggi, terdapat pada daun yang tumbuh pada urutan ke-3 sampai urutan ke-5 dari pangkal batang (Zuhud, 2011). Bentuk daun sirsak dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun sirsak (Hafif, 2012)

1.2.2 Habitat dan Penyebaran

Tanaman sirsak (*A muricata*) yang dikenal selalu berbuah sepanjang tahun ini awalnya tumbuh secara liar, kemudian dikembangkan menjadi tanaman pekarangan (Verheij dan Coronel, 1997). Tanaman yang dapat tumbuh di sembarang tempat, namun yang paling baik tanaman sirsak tumbuh dengan keadaan tanah yang banyak mengandung air. Nama sirsak berasal dari bahasa Belanda yakni *zuurzak* yang berarti kantung asam. Meskipun tanaman sirsak ini tidak berasal dari Belanda namun pertama kali tanaman ini diperkenalkan ketika zaman pemerintahan kolonial Belanda yang datang ke Indonesia pada abad ke-19. Tanaman sirsak ini berasal dari Karibia, Amerika Tengah dan Amerika Selatan.

Di Indonesia penyebaran tanaman sirsak dapat ditemukan dimana saja, selain itu tanaman sirsak memiliki nama unik di setiap daerah di Indonesia, seperti : angka sebrang, angka landa (Jawa), angka walanda, sirsak (Sunda), angka buris (Madura), srikaya jawa (Bali), durio ulondro (Nias), durian betawi (Minangkabau), jambu landa (Lampung), durian benggala, angka blanda.

2.1.3 Manfaat dan Kegunaan

Salah satu kandungan kimia sirsak yang berperan penting untuk obat adalah flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder dan keberadaannya pada daun tanaman dipengaruhi oleh proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa bahan alam dari golongan fenolik (Sjahid, 2008).

Manfaat flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik digunakan untuk pencegahan kanker, melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan antibiotik. Dalam kebanyakan kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi organisme seperti bakteri atau virus (Subroto dan Saputro, 2006).

Selain flavonoid, kandungan kimia sirsak yang juga dimanfaatkan sebagai obat adalah tanin. Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang sering ditemukan pada tanaman. Tanin merupakan astrigen, polifenol, berasa pahit, dapat mengikat dan mengendapkan protein serta larut dalam air (terutama air panas). Umumnya tanin digunakan untuk pengobatan penyakit kulit dan sebagai antibakteri, tetapi tanin juga banyak diaplikasikan untuk pengobatan diare, hemostatik (menghentikan pendarahan) dan wasir (Subroto dan Saputro, 2006).

2.1.4 Bahan Aktif

Kandungan kimia jenis-jenis dari daun sirsak terdiri dari dua golongan, yaitu non alkaloid dan alkaloid. Golongan non alkaloid yang telah diketahui adalah sukrosa, glukosa, fruktosa yang terdapat pada daun serta gliserides yang dapat menyebabkan kematian pada serangga. Golongan alkaloid yang ditemukan pada tanaman ini meliputi beberapa senyawa dari golongan benzil-tetrahydro-isoquinolin dan salah satunya adalah liriodin yang bersifat antitumor, antibakteri dan antijamur (Laboef *et al.*,1982). Selanjutnya, Mangan (2009)

menyatakan kandungan kimia dari sirsak adalah saponin, flavonoid, tanin, kalsium, fosfor, hidrat arang, vitamin A, B, dan C), fitosterol, Ca-oksalat dan alkaloid murisine. Flavonoid dapat menyebabkan rusaknya susunan dan perubahan mekanisme permeabilitas dari dinding sel bakteri, sedangkan alkaloid diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk secara sempurna (Sjahid, 2008).

Alkaloid merupakan suatu basa organik yang mengandung unsur nitrogen (N) pada umumnya berasal dari tanaman, yang mempunyai efek fisiologis kuat terhadap manusia. Kegunaan senyawa alkaloid dalam bidang farmakologi adalah untuk memacu sistem syaraf, menaikkan tekanan darah, dan melawan infeksi mikrobial (Pasaribu, 2009).

Berdasarkan kandungan kimia, kemampuan serta sifat senyawa aktif yang terdapat dalam daun sirsak dalam proses pengobatan cenderung dilakukan masyarakat. Maka, diduga daun sirsak memiliki efek antimikroba terhadap bakteri. Berdasarkan dugaan tersebut, dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* serta mengetahui konsentrasi yang efektif dari ekstrak kasar daun sirsak untuk menghambat pertumbuhan *A. hydrophila*.

Efektifitas dari senyawa-senyawa antimikroba dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Adapun faktor yang mempengaruhi efektifitas kerja suatu zat antimikroba menurut Pelczar dan Chan (1988) adalah konsentrasi, lama waktu pemberian, suhu, pH, jenis mikroba dan adanya kimia lain yang bersifat melindungi mikroba. Mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat berlangsung dalam beberapa cara, yaitu :

- (1) Mengganggu pembentukan dinding sel, dengan adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel akan menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel,

- (2) Penghambatan fungsi membran plasma. Beberapa antimikroba merusak permeabilitas membran, akibatnya terjadinya kebocoran materi intraseluler, seperti senyawa phenol yang dapat mengakibatkan lisis sel dan denaturasi protein, serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel,
- (3) Penghambatan sintesa protein, asam nukleat dan aktivitas enzim. Efek senyawa antimikroba dapat menghambat kerja enzim jika senyawa antimikroba mempunyai spesifitas yang sama dengan ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme sel, seperti sintesa protein dan asam nukleat (Katzung, 1989 ; Jawetz *et al.*, 2007).

2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfolgi

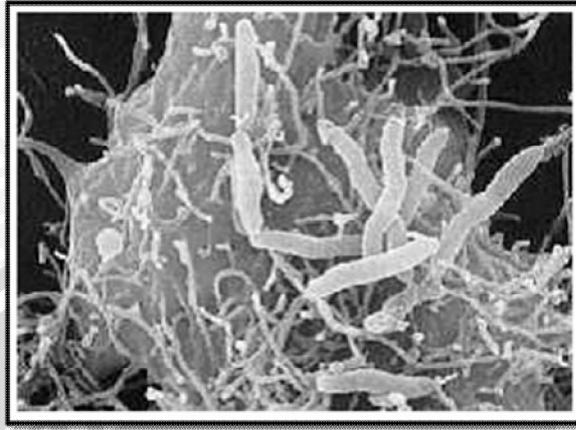
Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan spesies yang paling terkenal dari enam spesies dari genus *Aeromonas* yang mampu menyebabkan penyakit pada ikan.

Menurut Holt *et al.* (1979), klasifikasi bakteri *A. hydrophila* adalah sebagai berikut :

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schyzomycetes
Ordo	: Pseudomonasdales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Bakteri ini juga termasuk bakteri anaerob yang mendiami lingkungan perairan dan dapat hidup pada saluran pencernaan (Rey *et al.*, 2009). Bakteri ini termasuk bakteri anaerob gram negatif yang memiliki flagella polar dan memiliki

diameter 1,0-3,5 mikrometer. Bentuk bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. *A. hydrophila* (Martin, 2004)

Hayes (2000) menyatakan bahwa bakteri *A. hydrophila* adalah jenis bakteri yang bersifat metropolitan, oksidasif, anaerobik fakultatif, dapat memfermentasi gula, gram negatif, tidak membentuk spora, bentuk akar, dan merupakan penghuni asli lingkungan perairan.

2.2.2 Habitat dan Perkembangbiakan

Penyakit bercak merah yang biasa terjadi pada ikan merupakan salah satu penyebab dari infeksi bakteri *A. hydrophila*. Bakteri ini dapat ditemukan di semua lingkungan perairan tawar dan payau yang mengandung bahan organik tinggi (Martin, 2004). *A. hydrophila* dapat bertahan hidup pada lingkungan aerob maupun anaerob, kemudian mampu mencerna material-material seperti gelatin dan hemoglobin. *A. hydrophila* resisten terhadap klorin serta suhu yang dingin (faktanya jenis *A. hydrophila* dapat bertahan dalam temperatur rendah $\pm 4^{\circ}\text{C}$), tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan (Haryani *et al.*, 2012).

Sebagian besar isolat *A. hydrophila* mampu tumbuh dan berkembangbiak pada suhu 37°C dan tetap motil pada suhu tersebut. Disamping itu, bakteri *A. hydrophila* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,7-11,0 (Haryani *et al.*, 2012).

Apabila suatu bakteri diinokulasi dalam suatu media kultur yang sesuai dengan media hidupnya maka akan terjadi penambahan jumlah yang sangat banyak dalam waktu yang singkat. Proses reproduksi bakteri terjadi secara aseksual namun, yang paling umum dalam daur pertumbuhan bakteri adalah pembelahan biner melintang. Pembelahan ini merupakan suatu proses reproduksi aseksual setelah pembentukan dinding sel melintang maka satu sel tunggal membelah menjadi dua sel dan disebut sel anak.

2.2.3 Media Biakan Bakteri

Dwidjoseputro (2010) menyatakan bahwa media dan dasar makanan yang baik bagi pemeliharaan bakteri adalah media yang mengandung zat-zat organik seperti rebusan daging, sayur-sayuran, sisa makanan atau ramuan-ramuan yang dibuat oleh manusia. Medium buatan yang banyak digunakan dalam pekerjaan rutin di laboratorium adalah kaldu cair dan kaldu agar. Medium buatan manusia dapat berupa :

a. Medium Cair

Medium cair yang biasa digunakan adalah kaldu yang disiapkan sebagai berikut. Satu liter air murni ditambahkan 3 gram kaldu daging sapi dan 5 gram pepton. Pepton merupakan protein yang terdapat pada daging, susu, kedelai dan putih telur. Pepton banyak mengandung N_2 , sedangkan kaldu berisi garam-garam mineral dan lain-lain. Medium itu kemudian ditentukan pHnya 6,8 sampai 7 jadi sedikit asam atau netral. Setelah itu disaring dengan menggunakan kertas saring, setelah tabung atau botol berisi medium kaldu tersebut disumbat dengan kapas, dan hasil saringan yang di dapat disimpan ke dalam autoklaf.

b. Medium Kental (Padat)

Suatu penemuan yang baik, yaitu dengan medium dari kaldu yang dicampur dengan sedikit agar-agar. Setelah medium disterilisasikan dan kemudian dibiarkan mendingin, maka akan menjadi medium padat. Gelatin juga

dapat digunakan sebagai penambah keketalan yang akan mencair pada suhu 95°C dan membeku pada suhu 23 °C oleh karena itu, medium yang mengandung gelatin harus disimpan di tempat yang lebih dingin dari suhu ruangan.

c. Medium Diperkaya

Kebanyakan bakteri biasa hidup pada dasar makanan seperti yang sudah diterangkan diatas. Namun, apabila bakteri yang membutuhkan nilai gizi yang tinggi maka diperlukan pengkayaan media. Zat makanan yang biasa ditambahkan yaitu fibrinogen yang menyebabkan darah menjadi kental apabila keluar. Serum atau darah itu dicampurkan ke dalam medium yang sudah di sterilkan.

d. Medium Kering

Penyediaan medium kering cukup dengan mengambil beberapa gram medium yang tersedia dalam bentuk serbuk kering, kemudian dilarutkan dalam beberapa liter air dan disterilkan.

e. Medium Sintetik

Medium sintetik berupa ramuan-ramuan zat organik tertentu yang mengandung zat karbon dan nitrogen. Bakteri *autotrof* dapat dipelihara dalam medium ini, sedangkan bakteri *saprofit* dapat dipelihara di dalam medium ini jika ditambahkan natrium sitrat dan natrium ammonium fosfat.

2.3 Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)

Metode pengujian MIC (*Minimum Inhibiting Consentrasion*) merupakan salah satu metode yang bertujuan untuk menguji aktivitas zat antimikroba secara *invitro*. Dengan cara menentukan konsentrasi terendah dari zat tersebut yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diuji.

Terdapat dua metode yang digunakan dalam pengujian MIC yaitu teknik tabung pengenceran (*tube dilution technique*) dan metode difusi agar (*agar diffusion method*). Dalam teknik tabung pengenceran disiapkan beberapa seri

tabung yang berisi medium kultur yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang akan diujikan dan diberi zat antimikroba dengan konsentrasi berbeda-beda.

Adanya aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan tingkat kekeruhan yang terlihat pada tabung tersebut. MIC dipengaruhi oleh jenis organisme, ukuran, inokulan, komponen media kultur, lama inkubasi, serta kondisi inkubasi berupa suhu, pH, dan aerasi. Metode tabung pengenceran dapat digunakan untuk menentukan zat tersebut bersifat statis (Gunawan, 2007).

2.4 Uji Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antibakteri dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Uji cakram digunakan untuk mengetahui konsentrasi tertentu yang dapat menghambat bakteri yang bersifat bakteristatik (menghambat bakteri) setelah pengamatan 24 jam, maupun bakteriosidal (membunuh bakteri) setelah pengamatan 48 jam. Kertas cakram yang telah direndam dengan senyawa antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Kemampuan menghambat bakteri oleh senyawa antibakteri terlihat dari zona bening di sekitar pertumbuhan bakteri.

Metode difusi dilakukan dengan metode Kirby-Bauer yang dikenal dengan sebutan metode cakram kertas. Kertas cakram kosong terlebih dahulu dipanaskan dalam oven pada suhu 70 °C selama 15 menit, kemudian dicelupkan ke dalam larutan uji. Kemudian kertas cakram yang telah berisi supernatan didiamkan selama 15 menit sebelum diletakkan pada media uji. Secara aseptik setelah kertas cakram menyerap supernatant tersebut, diletakkan pada permukaan medium yang telah berisi mikroba uji dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Dilakukan pengukuran diameter zona hambat, yaitu zona

bening yang terbentuk di sekitar cakram, dengan menggunakan penggaris millimeter (Noverita *et al.*, 2009).

2.5 Metode Ekstraksi

Simanjuntak (2008) menyatakan bahwa ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari bahan alamiah nabati atau bahan alamiah hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan. Daun sirsak yang diekstraksi terlebih dahulu dibuat serbuk agar dapat meningkatkan efektivitas ekstraksi.

Ukuran luas permukaan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju reaksi. Menurut Tuyet dan Chuyen (2007), semakin kecil atau halus ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarutnya, sehingga dapat meningkatkan efektivitas ekstraksi. Serbuk kering daun sirsak kemudian diekstraksi hingga diperoleh ekstrak daun sirsak.

Ekstraksi atau penyarian merupakan pengambilan zat aktif yang semula berada dalam sel tanaman dengan bantuan pelarut tertentu. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor, seperti sifat dari bahan mentah tanaman, daya penyesuaian bahan terhadap berbagai macam metode ekstraksi, dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak tanaman. Metode ekstraksi menggunakan maserasi untuk mengikat senyawa alkaloid yang bersifat non polar dengan pelarut etanol 70% yang bersifat semi polar yang artinya mampu mengikat senyawa yang bersifat polar dan non polar (Purwatresna, 2012).

Ibtisam (2008) menyebutkan bahwa pemilihan cairan penyari harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain murah dan mudah diperoleh, stabil

secara fisika dan kimia, bereaksi netral, selektif, tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat, dan diperbolehkan oleh peraturan. Alasan lain adalah adanya peraturan yang dikeluarkan oleh BPOM RI (2010) mengenai cairan penyari untuk keperluan farmakologi menyebutkan hanya boleh menggunakan air atau etanol. Selain itu, Etanol 70% juga dipilih karena memiliki sifat antimikroba dan mampu memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut (Dalimartha 2006).

