

TEST THE INHIBITORY POWER OF SOURSOP LEAF EXTRACT (*Annona Muricata L*) AGAINST *Escherichia Coli* AND *Staphylococcus Aureus* BACTERIA BY DISC DIFFUSION METHOD

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata L*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia Coli* DAN *Staphylococcus Aureus* DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM

Marantika Komalasari, Radho Alkausar, Agustina Retnaningsih*

Prodi DIII Analis Farmasi dan Makanan Universitas Malahayati
E-mail : agustina@malahayati.ac.id

ABSTRACT

This study aims to determine the antibacterial inhibition of soursop leaf extract against Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria. Antibacterial test against Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria using disc diffusion method. The concentration of soursop leaf extract used was 25%, 50%, 75% and 100% with Tetracycline antibiotics as a positive control. The results of this study showed soursop leaf extract against Escherichia coli bacteria at a concentration of 25%, namely 0.00 mm, at a concentration of 50%, namely 8.30 mm, at a concentration of 75%, namely 8.80 mm, and at a concentration of 100%, namely 9.90 mm. While soursop leaf extract against Staphylococcus aureus bacteria at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% did not get inhibition zones in each repetition. The results of testing the inhibitory power of soursop leaf extract were more effective on Escherichia coli bacteria which are gram- negative bacteria.

Keywords: Sirsak leaf, antibacterial, Escherichia coli, Staphylococcus aureus

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat antibakteri pada ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram. Konsentrasi ekstrak daun sirsak yang digunakan 25%, 50%, 75% dan 100% dengan antibiotik Tetrasiklin sebagai kontrol positif. Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25% yaitu 0,00 mm, pada konsentrasi 50% yaitu 8,30 mm, pada konsentrasi 75% yaitu 8,80 mm, dan pada konsentrasi 100% yaitu 9,90 mm. Sedangkan ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% tidak didapat zona hambatan pada setiap pengulangan. Hasil pengujian daya hambat ekstrak daun sirsak lebih efektif pada bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif.

Kata kunci : Daun sirsak, antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Daun sirsak memiliki kandungan senyawa kimia yaitu, senyawa steroid, saponin, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Flavonoid bersifat antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan antipiretik. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri⁽¹⁰⁾. Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi⁽³⁾. Komponen bioaktif dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Jenis ekstraksi yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara dingin

dengan maserasi dan perkolasi. Pemilihan metode ekstraksi sangat penting dilakukan karena hasil ekstraksi akan mencerminkan tingkat keberhasilan metode tersebut⁽²⁾.

Diare adalah peningkatan keenceran dan frekuensi tinja. Diare dapat bersifat akut atau kronis, penyebabnya selain racun juga higienis dan sanitasi lingkungan serta infeksi bakteri patogen, seperti *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *salmonella typhi*, *vibrio* dan *Staphylococcus aureus* yang mencemari dalam makanan⁽⁶⁾. Proses terjadinya diare ini

dikarenakan makanan yang dicerna sebelum mencapai usus besar terdiri dari mayoritas cairan, usus besar menyerap air meninggalkan material lain sebagai kotoran setengah padat, bola usus besar terdapat gangguan, rusak, radang atau inflamed, penyerapan tidak terjadi dan hasilnya adalah kotoran yang berair maka terjadilah diare⁽¹⁾.

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif yang bersifat patogen dan dapat menginfeksi usus manusia sehingga menyebabkan diare. *Escherichia coli* berbentuk batang bersikap Gram-negatif, fakultatif anaerob, tidak dapat membentuk spora⁽⁴⁾. Selain bakteri *Escherichia coli* bakteri lain yang bersifat patogen adalah bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif merupakan bakteri fakultatif anaerob. Bakteri ini merupakan patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami berbagai macam infeksi

Staphylococcus aureus selama hidupnya, dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan⁽⁹⁾. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Andrian, (2018) dengan judul "Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* menyatakan bahwa ekstrak daun sirsak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*". Maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji daya hambat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) terhadap bakteri *Escherichiacoli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi cakram.

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui daya hambat antibakteri yang dimiliki ekstrak daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichiacoli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi cakram.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan Alat

Beaker glass, Erlenmeyer, Autoclave, Aluminium foil, Rotary evaporator, Oven, Jarum Ose, Pinset, Cawan petri, Pipet ukur, Batang pengaduk, Inkubator, Spatula, Neraca analitik, Lampu Bunsen, jangka sorong, Lidi kapas steril, Blender, Kertas kopi, Tabung reaksi dan rak.

Bahan

Daun sirsak, Media *Nutrient Agar* (NA), Etanol 96%, NaCl 0,9%, Kertas cakram, Tetrasiklin (kontrol positif), Aquades steril (kontrol negatif), Biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Prosedur

Penelitian Preparasi Sampel Daun sirsak dicuci bersih kemudian dipotong kecil-kecil, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian diserbukan.

Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Daun sirsak yang sudah diserbukan ditimbang sebanyak 500 gram, masukan dalam wadah, tambahkan pelarut etanol 96% hingga sampel terendam, diamkan selama 24 jam pada suhu ruang, Hasil Maserasi disaring dengan kertas saring kedalam wadah penampung, filtrat dipisahkan dari ampasnya, Kemudian ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 96% yang baru, Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali, Semua filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat.

Pembuatan Media

Timbang media *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 10 gram kemudian dilarutkan dengan 500 ml aquades kemudian dihomogenkan, media tersebut disterilkan kedalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri diencerkan dengan mencampur ose suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* kedalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan NaCl 0,9% dan telah distandarisasi sesuai konsentrasi 0,5 Mac Farland.

Uji Antimikroba

Dengan cara mengambil biakan murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* berumur 24 jam dari stok kultur murni dan dimasukan kedalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0.9% steril sebanyak 3-5 mL.

Lidi kapas steril dicelupkan kedalam suspensi bakteri, lalu tekan pada dinding tabung hingga kapasitasnya tidak terlalu basah, kemudian dipulas pada media *Nutrient Agar* sampai rata.

Diambil disk cakram yang telah direndam selama beberapa menit dalam larutan sampel dengan pinset steril dan diletakan diatas lempeng agar yang ditanami bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Sebagai kontrol negatif digunakan kertas cakram yang direndam selama beberapa menit didalam akuadest steril dan sebagai kontrol positif digunakan antibiotik tetrasiklin diletakan diatas media yang telah ditanami *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Diinokulasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Diamati ada tidaknya zona hambat (wilayah jernih) yang terbentuk disekitar kertas cakram.

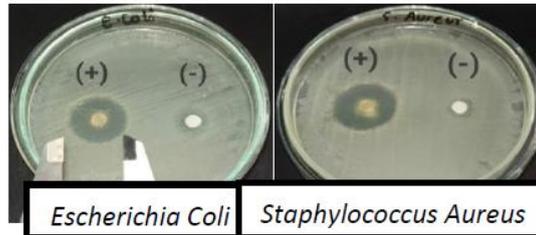
JURNAL ANALIS FARMASI

Volume 6, No. 2 Oktober 2021, Hal 73 – 78

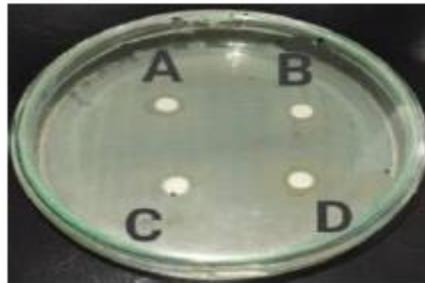
HASIL PENELITIAN

Hasil pengujian daya hambat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) terhadap bakteri *Escherichia coli*

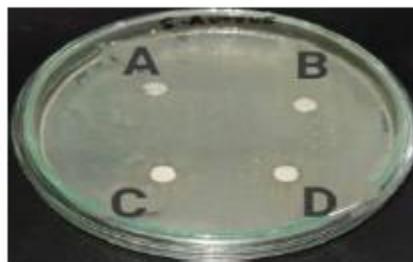
dan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, dengan hasil yang dapat dilihat pada gambar dibawah ini sebagai berikut :



Gambar 1. Hasil Kontrol Positif Dan Negatif.



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak Terhadap bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Keterangan :

A = Kosentrasi 25 % B = Kosentrasi 50 % C = Kosentrasi 75 % D = Kosentrasi 100 %

Tabel 1. Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Konsentrasi Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	U1	U2	U3	
<i>Escherichia Coli</i>				
25%	0,00	0,00	0,00	0,00
50%	0,00	0,00	8,30	8,30
75%	7,80	9,60	9,00	8,80
100%	9,00	10,20	10,50	9,90
Kontrol +	23,60	23,60	23,60	23,60
Kontrol -	-	-	-	-
<i>Staphylococcus Aureus</i>				
25%	0,00	0,00	0,00	0,00
50%	0,00	0,00	0,00	0,00
75%	0,00	0,00	0,00	0,00
100%	0,00	0,00	0,00	0,00
Kontrol +	24,30	24,30	24,30	24,30
Kontrol -	-	-	-	-

Hasil pengujian pada ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50%, 75% dan 100% terbentuk zona hambat dan menunjukkan adanya hambatan bakteri. Hasil pengujian ekstrak daun sirsak pada bakteri *staphylococcus aureus* bahwa pada konsentrasi 25% sampai 100% tidak terbentuk zona hambat atau menunjukkan tidak adanya hambatan bakteri pada semua pengulangan.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan uji daya hambat ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tanaman sirsak (*Annona muricata L*) memiliki kandungan senyawa kimia yaitu, senyawa steroid, saponin, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Flavonoid bersifat antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan antipiretik. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri.

Sebelum sampel dianalisa terlebih dahulu sampel dipreparasi dengan cara sampel daun sirsak yang telah diambil dicuci dengan air mengalir kemudian dipotong kecil-kecil, lalu dikeringkan dengan diangin-anginkan setelah itu di blender hingga menjadi serbuk, kemudian sampel serbuk daun sirsak ditimbang sebanyak 500 gram, lalu diekstraksi dengan etanol 96% sebanyak 5000 ml dan proses maserasi diulang 3 x 24 jam. Kemudian di pekatkan dengan *rotary evaporator*. Alasan menggunakan pelarut etanol 96% yaitu bersifat lebih selektif, mudah menguap, dan

mendapatkan ekstrak pekat lebih cepat dibandingkan dengan etanol 70%. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan ekstraksi yang dilakukan hanya dengan merendam simplisia dan tidak mengalami pemanasan sama sekali dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Setelah didapat larutan pekat dari ekstrak daun sirsak dibuat konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, dan 100%. sebanyak 10 ml. Dibuat pengenceran konsentrasi untuk mengetahui kadar minimal dari ekstrak daun sirsak, dan untuk membandingkan hasil dari tiap konsentrasi yang berbeda. Bakteri yang digunakan sebelumnya dilakukan peremajaan terlebih dahulu untuk meregenerasi bakteri agar diperoleh bakteri yang muda dan tidak terkontaminasi, media yang digunakan untuk peremajaan dan pengujian adalah *Nutrient Agar*, karena media NA sumber nitrogen dan sumber karbon, sumber vitamin untuk pertumbuhan bakteri dan merupakan media umum yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri dan untuk mengisolasi mikroorganisme dari kultur murni. Pada medium ini juga ditambah garam (NaCl) untuk menyeimbangkan tekanan osmotik sel bakteri dan medium, agar bakteri yang di tumbuhkan tidak mati. Biakan mikroba pada penelitian ini di dapat dari stok murni bakteri dengan cara di ambil koloni bakteri dari stok murni menggunakan jarum ose yang sudah steril kemudian di isolasi pada media NA pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Bakteri hasil peremajaan kemudian dibuat suspensi bakteri dengan cara mengencerkan bakteri dengan mencampur ose suspensi bakteri dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl 0,9% dan distandarisasi dengan Mac farland 0,5. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram dengan cara meletakkan cakram yang telah direndam pada cairan antimikroba yang akan diuji yaitu ekstrak daun sirsak. Antibiotik yang digunakan adalah tetrasiklin sebagai kontrol positif karena antibiotik tersebut bersifat bakteriostatik yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri. Pada pengujian ini, kertas cakram yang telah direndam dengan larutan uji diletakkan di atas media *Nutrient Agar* (NA) yang telah dipulas dengan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sebagai kontrol negatif menggunakan kertas cakram yang direndam dengan akuades steril berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktifitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilihat ada atau tidaknya zona hambatan yang terbentuk disekitar kertas cakram.

Hasil penelitian memperlihatkan terbentuknya zona hambat yang berbeda – beda pada tiap konsentrasi. Pengujian aktivitas antibakteri Ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli* bahwa pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 9,90 mm, konsentrasi 75% 8,80 mm, konsentrasi 50% 8,30 mm, dan konsentrasi 25% 0,00 mm tidak menunjukkan adanya zona hambatan (wilayah jernih). Dari hasil penelitian, ekstrak daun sirsak tidak terjadi hambatan yang bersifat sensitif menghambat bakteri *Staphylococcus Aureus* karena struktur dan sifat bakteri itu sendiri. *Staphylococcus Aureus* termasuk kedalam golongan gram positif, sifat dari bakteri ini yang membedakan dengan bakteri lainnya adalah susunan dinding selnya. Faktor penyebab tidak terdapat zona hambatan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dikarenakan dinding selnya lebih tebal dan potensi antibakterinya tidak cukup.

Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak lebih efektif pada bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif. Antibiotik tetrasiklin memiliki zona hambat sangat besar dibandingkan ekstrak daun sirsak karena ekstrak daun sirsak masih memiliki beberapa senyawa yang tercampur dalam ekstrak.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan terhadap uji daya hambat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat disimpulkan :

Ekstrak daun sirsak dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 9,90 mm, konsentrasi 75% 8,80 mm, konsentrasi 50% 8,30 mm, dan konsentrasi 25% 0,00 mm tidak terjadi zona hambat (wilayah jernih) disekitar disk cakram.

Ekstrak daun sirsak tidak dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* tidak didapat zona hambatan pada konsentrasi 25% sampai 100% disetiap pengulangan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak lebih efektif pada bakteri

Escherichia coli yang merupakan bakteri gram negatif.

SARAN

Perlu dilakukan kehati-hatian dalam penelitian menggunakan metode difusi cakram karena metode ini rentan terkontaminasi. Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri terhadap ekstrak daun sirsak dengan bakteri dan penyakit lainnya.

Saran untuk penelitian selanjutnya sebelum melakukan uji daya hambat terhadap bakteri, dilakukan dahulu uji identifikasi terhadap bakteri yang hendak digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhsin Zulkoni M.Si. 2010.
- Handayani, R., Fahruni dan Novaryatiin, S. 2016. "Potensi Tumbuhan Kelakai (*stenochlaena palustris* (Burm. F.) Btdd) Sebagai Afrodisiaka". Palangka Raya : Laporan
- Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor M.Y, dan Oskoueian E. 2011. *Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of phaleria macrocarpa* (Scheff). Boel fruit. Int J Mol Sci;12:3422-3431.
- Manning SD. 2010. *Deadly diseares and Epiderics : Esherichia coli* Infection, Ed ke-2. New York : Chelsea Publishers.

JURNAL ANALIS FARMASI

Volume 6, No. 2 Oktober 2021, Hal 73 – 78

Nursalam. 2008. *Asuhan Keperawatan Bayi dan Anak*. Penerbit Salemba Medika : Jakarta. *Parasitologi*. Nuha Medika : Yogyakarta.

Penelitian Dosen Pemula Universitas Muhammadiyah Palangkaraya.

Riska Velysiana Andriani. 2018. *Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella dysenteriae*. Skripsi Jombang. Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika. Jombang.

Sujudi. 1945. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Penerbit Binarupa Aksara, Yogyakarta.

Sulastrianah, Imran dan Fitria E.S. 2014. "*Uji Daya Hambat Ekstrak Duan Sirsak (Annona muricata L) dan Daun Sirih (Piper betle L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri E coli*". Sulawesi Tenggara : Skripsi Universitas Halu oleo.