

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN SIRSAK (*Annonae muricata L.*) DENGAN METODE DIFUSI AGAR CAKRAM TERHADAP
*Escherichia coli***

**(ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT
OF SOURSOP LEAF (*Annonae muricata L.*) WITH AGAR DIFFUSION DISC METHOD TOWARD
Escherichia coli)**

I MADE AGUS SUNADI PUTRA^{1*}

¹Akademi Farmasi Saraswati Denpasar, Jalan Kamboja no. 11A, Denpasar, Bali

Abstrak. Diare biasanya disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang terkontaminasi melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri tersebut melalui lalat. Beberapa masyarakat menggunakan daun sirsak sebagai antidiare. Banyak kandungan yang terdapat dalam daun sirsak ini saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid, yang mana senyawa ini dapat berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annonae muricatae L.*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *E. coli* ATCC 25922 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana. Hasil perasan daun sirsak berasal dari 100 gram daun sirsak yang dihaluskan kemudian ditambah dengan etanol, maserasi kemudian diperas. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Konsentrasi ekstrak kental daun sirsak yang digunakan adalah 50%, 80%, 100% dan kontrol positif tetrasiklin. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar (difusi Kirby dan Bauer yang dimodifikasi) dengan cara cakram. Media yang digunakan adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA). Hasilnya pada konsentrasi 50%, 80% dan 100% tidak menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: Antibakteri, maserasi, difusi agar, *Escherichia coli*

Abstract. Diarrhea is usually caused by the bacterium *Escherichia coli* contaminated by food and water contaminated by bacteria flies. Some people use the leaves of the soursop as an antidiarrheal. A lot of the content contained in this soursop leaves saponins, tannins, alkaloids and flavonoids, compounds which can serve as a disinfectant-antiseptic. This study aims to determine the antibacterial activity of the ethanol extract of the leaves of the soursop (*Annonae muricatae L.*) on the inhibition of the growth of the bacterium *Escherichia coli*. This research using the bacterium *E. coli* isolates ATCC 25 922 obtained from the Laboratory of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Udayana. Results derived from the leaves of the soursop juice 100 grams of soursop leaf mashed then added with ethanol, maceration then squeezed. Extraction was done by maceration method using ethanol 95%. Soursop leaf extract concentration condensed used was 50%, 80%, 100% and a positive control tetracycline. Testing for antibacterial activity using agar diffusion method (Kirby and Bauer diffusion modified) by means of discs. The medium used was *Mueller Hinton Agar* (MHA). The result in concentrations of 50%, 80% and 100% showed no zone of inhibition against the bacteria *Escherichia coli*.

Keywords: anti bacteria, maseration, agar difussion, *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Diare merupakan suatu penyakit yang sering terjadi pada masyarakat. Penyakit ini dapat menyerang siapa saja. Penyakit ini pada umumnya dapat terjadi dikarenakan masyarakat kurang menjaga kebersihan makanan yang dikonsumsi.

Diare biasanya disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang terkontaminasi melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri tersebut melalui lalat. Penyakit ini banyak ditemukan di negara-negara beriklim tropis termasuk Indonesia, hal ini terkait dengan air dan

* correspondence email: agussunadi@unmas.ac.id

sanitasi lingkungan terutama pada musim kemarau dan mayoritas terjadi pada anak-anak.

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 (Akhsin Zulkoni, 2010).

Banyaknya efek samping dari obat-obatan kimia, menyebabkan masyarakat kini mulai menggunakan obat-obatan herbal. Pengobatan herbal merupakan pengobatan yang diwariskan secara turun temurun atau empiris dari zaman dahulu. Pengobatan yang sangat mudah dan harga murah serta efek samping yang seminimal mungkin merupakan suatu kebutuhan bagi masyarakat saat ini. Dari sinilah mulai adanya penelitian akan adanya bahan aktif yang berguna bagi pengobatan masyarakat. Berbagai macam tumbuh-tumbuhan pun diuji efektifitasnya. Dilakukan uji terhadap tumbuhan tersebut dengan mengekstrak terlebih dahulu agar mendapat filtrat yang benar-benar mengandung zat aktif kemudian diuji kandungan yang berkhasiat. Salah satu tumbuhan yang akhir-akhir ini disorot oleh masyarakat dan para peneliti adalah tumbuhan sirsak. Tumbuhan sirsak sangat mudah ditemukan, buahnya dapat dikonsumsi karena mengandung vitamin C dan serat yang cukup. Dimasa yang lalu, daun sirsak digunakan sebagai obat anti diare oleh masyarakat sehingga diperkirakan daun sirsak memiliki senyawa sebagai efek antibakteri. Daun sirsak saat ini hanya dianggap biasa saja oleh kebanyakan masyarakat. Perlunya pengetahuan tentang daun sirsak ini yang ternyata tidak hanya sebagai daun biasa saja. Banyak kandungan yang terdapat dalam daun sirsak ini. saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid, yang mana senyawa ini dapat berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik, sehingga dapat dimungkinkan bahwa tanaman yang mengandung senyawa ini dapat digunakan sebagai antibakteri khususnya untuk mengobati penyakit diare (Yeni Dianita Sari, 2007)

Maka dari itu sehubungan dengan keperluan akan pengobatan tradisional yang makin diminati oleh masyarakat, diperlukan adanya penelitian mengenai efek antibakteri dari ekstrak etanol daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*.

METODE PENELITIAN

Alat. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain meliputi beaker glass, Alumunium foil, batang pengaduk, gelas ukur, ose, timbangan analitik, cawan petri, autoklaf, tabung reaksi, Erlenmeyer, hot plate stirrer, kapas, tabung reaksi, pinset, lampu Bunsen.

Bahan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain meliputi ekstrak daun sirsak, medium padat *Mueller Hinton Agar*, etanol 95%, alkohol, aquadest

Langkah kerja ekstraksi:

1. Siapkan alat dan bahan yang diperlukan.
2. Siapkan 100 g daun sirsak yang sudah dikeringkan, haluskan dengan blender.
3. Masukkan simplisia beserta etanol 95% sebanyak 1L ke dalam beaker glass, tutup dengan menggunakan alumunium foil selama 3 hari, sesekali diaduk.
4. Saring kemudian evaporasi dengan suhu 40°C.

Langkah kerja sterilisasi. Cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, penjepit, spatula, media Agar, dan seluruh alat dan bahan (kecuali ekstrak) yang akan digunakan disterilisasi di dalam *autoclave* selama 30 menit dengan mengatur tekanan sebesar 15 dyne/cm³ (1 atm) dan suhu sebesar 121 °C setelah sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas (Cappuccino dan Sherman, 2001).

Langkah kerja pembuatan media. Campurkan 3g medium dalam 1L aquadest, homogenkan dengan stirrer.

1. Panaskan hingga mendidih, tunggu 1 menit.
2. Sterilisasi dengan *autoclave* dengan suhu 116°C-121°C hingga 15 menit.

Langkah pembuatan suspensi bakteri. Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland*. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

Langkah kerja penanaman bakteri. Ekstrak daun sirsak diuji dengan konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*. Biakan bakteri yang akan diuji ditanam pada media *Mueller Hinton Agar*, kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Kertas cakram dengan diameter 0,55 cm dicelupkan ke dalam ekstrak daun sirsak. Kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang

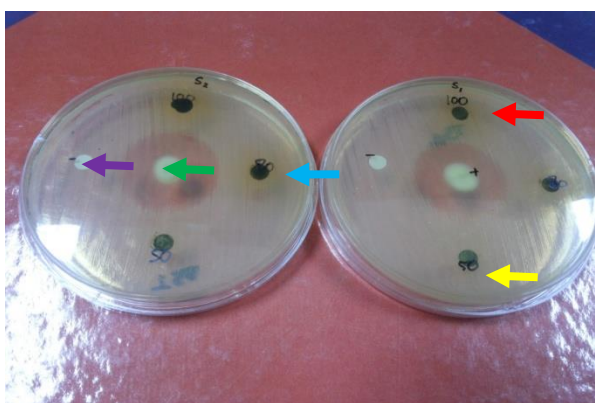
telah berisi media dan biakan tersebut, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona terang yang terbentuk di sekeliling kertas cakram diukur menggunakan penggaris dan dengan bantuan kaca pembesar (Brooks et. Al, 2005, Matasyoh, 2007).

Pengamatan dan pengukuran. Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte *et al*, 2005).

HASIL PENELITIAN

Penelitian terhadap uji aktifitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Udayana Fakultas Kedokteran Udayana yang dimulai pada tanggal 5 Juli 2013 sampai tanggal 10 Juli 2013. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Udayana dan menghasilkan ekstrak daun sirsak sebanyak 50ml berwarna hijau pekat. Kemudian ekstrak daun sirsak tersebut yang diuji efektifitasnya.

Ekstrak tersebut kemudian dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 50%, 80%, dan 100%. Setelah 24 jam diinkubasi dapat dilihat bahwa tidak terdapat zona bening atau hambatan pada ekstrak daun sirsak pada konsentrasi 50%, 80% dan 100%. Zona hambatan hanya terjadi pada variabel positif antibiotik.



Keterangan:

- ← : konsentrasi 100%
- ← : konsentrasi 80%
- ← : konsentrasi 50%
- ← : kontrol positif (antibiotik tetrasiklin)
- ← : kontrol negative (etanol)

TABEL 5.1. Hasil uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli*.

KONSENTRASI	PETRI 1	PETRI 2
50%	0mm	0mm
80%	0mm	0mm
100%	0mm	0mm
KONTROL (+)	34mm	36mm
KONTROL (-)	0mm	0mm

PEMBAHASAN

Diare biasanya disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang terkontaminasi melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri tersebut melalui lalat. Penyakit ini banyak ditemukan di negara-negara beriklim tropis termasuk Indonesia, hal ini terkait dengan air dan sanitasi lingkungan terutama pada musim kemarau dan mayoritas terjadi pada anak-anak. 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 (Akhsin Zulkoni, 2010).

Banyaknya efek samping dari obat-obatan kimia, menyebabkan masyarakat kini mulai menggunakan obat-obatan herbal. Dari sinilah mulai adanya penelitian akan adanya bahan aktif yang berguna bagi pengobatan masyarakat. Berbagai macam tumbuh-tumbuhan pun diuji efektifitasnya. Dilakukan uji terhadap tumbuhan tersebut dengan mengekstrak terlebih dahulu agar mendapat filtrat yang benar-benar mengandung zat aktif kemudian diuji kandungan yang berkhasiat. Salah satu tumbuhan yang akhir-akhir ini disorot oleh masyarakat dan para peneliti adalah tumbuhan sirsak. Selain itu, beberapa masyarakat pun sudah menggunakan daun sirsak sebagai obat diare alami yang dapat diolah sendiri sehingga peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antibakteri yang terdapat dalam daun sirsak.

Dalam penelitian ini, telah dilakukan uji efektivitas antibakteri ekstrak daun sirsak terhadap uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annonae muricatae L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Awalnya dicari daun sirsak yang masih segar kemudian dikeringkan tanpa terkena paparan sinar matahari langsung agar senyawa yang terkandung pada daun sirsak tidak rusak dan setelah kering dihaluskan dengan blender. Kemudian dilakukan ekstraksi pada daun sirsak

yang telah dihaluskan dengan menambahkan etanol 95% selama 3 hari. Setelah mendapat ekstrak awal daun sirsak kemudian ekstrak di evaporasi agar mendapat ekstrak kental yang murni tanpa ada etanol. Ekstrak inilah yang kemudian diuji efek antibakteri dengan metode difusi agar.

Pada penelitian uji aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi cara *Kirby Bauer* dengan risiko kegagalan yang lebih kecil dibanding cara lainnya karena pada saat media yang telah dilakukan penggoresan, media tersebut ditempatkan secara terbalik untuk mencegah tetesan uap air yang timbul jatuh ke atas media yang telah ditanami bakteri, tetesan ini dapat mempengaruhi hasil akhir dari inkubasi. Disamping itu, dengan cara ini lebih efisien terhadap waktu yang digunakan dalam penelitian.

Pada pemeriksaan aktivitas antibakteri secara dilusi cair digunakan beberapa kontrol sebagai pembanding yaitu, dengan konsentrasi 50%, 80%, dan 100% serta pembanding positif berupa antibiotik tetrasiklin. Pemilihan konsentrasi ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Yeni Dianita Sari yang menggunakan konsentrasi mulai dari konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% dengan menggunakan infusa. Hasilnya hingga konsentrasi 100% infusa tidak memberikan efek antibakteri. Sehingga peneliti memodifikasi dengan mengambil tiga konsentrasi saja untuk diteliti yaitu 50%, 80%, dan 100%, diharapkan dengan memodifikasi pengujian menggunakan sediaan yang berbeda dapat memberikan efek antibakteri.

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA) karena dianggap sebagai media terbaik untuk pengujian rutin kerentanan bakteri, sangat rendah dalam sulfonamide, trimetoprim, dan tetrasiklin, mendukung pertumbuhan yang memuaskan patogen nonfastidious. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) ini telah direkomendasikan oleh WHO untuk tes antibakteri terutama bakteri aerob dan *facultative anaerobic bacteria* untuk makanan dan materi klinis. Media agar ini juga telah terbukti memberikan hasil yang baik dan reproduksibel (*reproducibility*). Media agar ini mengandung sulfonamida, trimetoprim, dan inhibitor tetrasiklin yang rendah serta memberikan pertumbuhan patogen yang memuaskan (Acumedia, 2004).

Pemilihan media *Mueller Hinton Agar* dalam penelitian ini juga dilakukan dengan alasan pengujian adalah berdasarkan prinsip penghitungan zona hambatan menggunakan *paper discs*. *Paper discs* direndam dalam konsentrasi tertentu larutan uji dan ditempatkan dipermukaan

media. Metode ini lebih efisien dalam pengerjaan dan resiko kegagalan lebih kecil dari pada metode lain. *Plates* diinkubasi dan zona hambatan disekitar *disc* diukur. Banyak faktor yang dapat berpengaruh terhadap efektivitas hambatan dengan *disc* ini, seperti konsentrasi inokulum yang merata, ke dalam agar, kemampuan *disc*, pH media, dan terbentuknya *beta-lactamase* oleh bakterinya. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak terhadap *Eschericia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50%, 80%, dan 100% tidak mampu membunuh pertumbuhan bakteri tersebut.

Hasil penelitian ini masih dirasa kurang memuaskan dikarenakan pada literatur yang didapatkan menyatakan bahwa terdapat senyawa yang berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik tetapi hasilnya tidak sesuai. Hal ini dapat dikarenakan maserasi yang dilakukan hanya 3 hari sehingga dalam proses menyari menjadi tidak sempurna sehingga senyawa yang mampu tertarik hanya sebagian saja. Pada proses maserasi menggunakan etanol 95% yang bersifat kurang polar sehingga kurang menyari zat aktif pada proses ekstraksi daun sirsak.

KESIMPULAN

- Ekstrak etanol 95% daun sirsak memberikan efek negatif sebagai antibakteri.
- Ekstrak etanol 95% daun sirsak tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*.

SARAN

- Perlu diadakan uji pendahuluan dan skrining untuk memastikan senyawa yang terkandung dalam simplisia.
- Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri daun sirsak dalam bentuk sediaan yang lain.
- Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri sirsak menggunakan bagian tanaman yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhsin Zulkoni M. Si. 2010, *Parasitologi*, Yogyakarta, Nuha Medika
- Brooks, G.F., Butel, J. S., and Morse, S. A., 2005, "Jawetz, Melnick & Adelbergh's"

- Boyd, Robert F., 1988, *General Microbiology*, Second Edition. Times Mirror/Mosby College Publishing.
- Ditjen POM. 1985, *Materika Medika Indonesia Jilid V*, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Indan Entjang. 2003, *Mikrobiologi & Parasitologi*, Bandung, Citra Aditya Bakti
- Jawetz et. al. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 20*. EGC: Jakarta.
- Lud Waluyo, M. Kes. Teknik & Metode Dasar dalam Mikrobiologi, Malang. UMM Press
- Maksum Radji, M. Biomed. 2009, *Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*, Jakarta, EGC
- Matasyoh G., Matasyoh, J.C.F.N., Kinyua, M, G., Muigai, A.W.T., and Muhiana, T.K., 2007, *Chemical Composition and Antimicrobial Activity of The Essential oil of Ocimum gratissimum L. Growing in Eastern Kenya*, African Journal of Biotechnology, Vol. 6
- Pelczar, Michael, J., dan E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi I*. UI Press, Jakarta.
- Atlas, R.M. (2004). *Handbook of Microbiological Media*. London: CRC Press.
- Tjay, T. dan Rahardja, K., 1986, *Obat-Obat Penting*, Jayakarta, ITB, Bandung.
- Vandepitte, et al. 2005. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologis Klinis. Edisi 2. Buku Kedokteran*, Jakarta, EGC.