

UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) TERHADAP ZONA HAMBAT *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DENGAN METODE SUMURAN

Hibban Rifai*¹, Andri Pramesyanti** , Retno Yulianti ***

*Program Studi Sarjana Kedokteran, FK UPN “Veteran” Jakarta

**Departemen Mikrobiologi, FK UPN “Veteran” Jakarta

*** Departemen Patologi Anatomi, FK UPN “Veteran” Jakarta

Jl. RS Fatmawati, Pondok Labu, Jakarta Selatan 12450, Telp. (021) 7656971

E-mail : hibbanzrifai@gmail.com

Abstract

Soursop (Annona muricata) is claimed to have an antimicrobial effect. This study was conducted to determine the antimicrobial effect of Soursop (Annona muricata) leaves extract and the correlation between its effect based on the inhibition zone measured in diameter and for every increases of the concentration of the extract while using wells diffusion method. A total of 700 gram of leaves was prepared and turned into ethanol extract using maceration technique and then the extract is diluted into various concentration, specifically 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. The process was repeated 3 times in order to obtain 24 samples. Ciprofloxacin was used as a positive control while the aquadest was used as the negative. All samples are incubated for 24 hours. Data obtained was analyzed using Pearson's r with Confidence interval of 95% and the data was statistically significant (p=0,000). The results shown that the Pearson's r was positive with every increases of concentration of extract in 1%, the diameter of inhibition zone (R²) is also increased by amount of 0,731 mm. The Soursop extract shown its efficacy for every concentration which was tested and increases in concentration are correlated to the increases of the diameter of the inhibition zone.

Keyword : *Annona muricata, Staphylococcus aureus, Wells Diffusion*

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus menjadi penyebab sebagian besar kasus infeksi mikroba dalam lingkungan masyarakat dan lingkungan kesehatan (*healthcare-acquired*). Epidemiologi dalam beberapa tahun terakhir mulai bermunculan *S. aureus* yang resisten terhadap banyak antibiotik yakni penisilin dan oksasilin serta golongan beta laktam lainnya. Infeksi *S.aureus* bermula dari masuknya mikroorganisme tersebut kedalam tubuh *host* melalui pembukaan pada lapisan kulit dan mukosa yang akan mempengaruhi struktur jaringan lokal atau akan menyebar ke organ lain mengakibatkan penyakit

infeksius invasif yang mengancam nyawa seperti bakteremia, pneumonia, dan osteomielitis.¹⁻³

Staphylococcus aureus telah berevolusi secara pesat terhadap pengenalan zat antibiotik selama tujuh puluh tahun terakhir. Walaupun pada umumnya *S. aureus* merupakan spesies yang rentan terhadap antibiotik, seiring dengan waktu, bakteri tersebut menjadi resisten terhadap setiap obat antibiotik yang sudah masuk tahap klinis hingga tercatat 80 % dari isolat *S. aureus* resisten terhadap penisilin.⁴

Obat golongan penisilin antistafilokokal yang resisten terhadap penisilinase, atau disebut methicillin, menunjukkan respon adekuat terhadap

¹ Kontak Person : Hibban Zhafran Rifai
Prodi Sarjana Kedokteran, FK UPN “Veteran”
Jakarta, Telp. (021) 7656971

penicillin-resistant S. aureus. Namun, resistensi obat methicillin muncul dibuktikan dengan identifikasi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pertama di rumah sakit di Kota London.⁵ Penggunaan obat golongan glikopeptida memiliki hubungan dengan munculnya *S. aureus* yang mulai resisten terhadap obat glikopeptida sehingga mendorong lembaga kesehatan untuk mengembangkan wawasan dan mencari terapi alternatif untuk isolat *Staphylococcus aureus*. Di Indonesia, masyarakat memiliki persepsi tanaman herbal dapat digunakan sebagai pengganti obat klinis.

Tanaman sirsak (*Annona muricata*) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif kanker dan pengganti kemoterapi. Pengobatan tradisional terutama di Indonesia telah menggunakan tanaman ini sebagai pengganti dari obat dengan zat antibakterial aktif terhadap patogen. Hal yang menyebabkan tanaman sirsak menjadi poten terhadap mikroorganisme adalah keberadaan dari beberapa zat metabolit sekunder berupa senyawa fenolik, flavonoid, tannin, alkaloid, saponin, dan glikosida, serta *acetogenin*.⁶ Senyawa metabolit seperti flavonoid, alkaloid dan terpenoid diketahui memiliki efek antimikroba. Selain metabolit, tumbuhan sirsak juga mengandung senyawa *acetogenin*. *Acetogenin* adalah zat aktif yang dapat ditemukan di famili *annonacea*. Zat ini diketahui memiliki efek tumorisida, anti-malaria, anti-helmintik, antiviral, dan antimikroba.⁷

Penelitian mengenai efek antimikroba ekstrak daun sirsak telah dilakukan dengan bakteri *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, dan Jamur *Candida albicans* dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15%, 20% oleh Pai *et al.* dengan hasil semua gradien konsentrasi efektif pada semua mikroba diatas kecuali *Prevotella intermedia*.⁸ Penelitian mengenai *Annona muricata* juga dilakukan oleh Viothini dan

Growther untuk melihat efek antimikroba ekstrak daun dan buah terhadap beberapa jenis bakteri diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* dan *Proteus mirabilis* dan mendapatkan hasil bahwa ada efek antimikroba ekstrak terhadap bakteri yang diuji⁹.

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, peneliti merasa hasil penelitian dari ekstraksi perlu dilakukan ulang dengan gradien konsentrasi yang berbeda dan variabel bakteri *Staphylococcus aureus* masih belum spesifik, mengetahui penelitian juga dilakukan di kawasan yang berbeda.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melanjutkan penelitian tentang uji efektivitas daun sirsak dengan metode sumuran terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80, dan 100% dikarenakan mengacu pada penelitian-penelitian sebelumnya yang menggunakan variasi konsentrasi tersebut.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain uji eksperimental dalam mengeksplorasi potensi efek antimikroba ekstrak *Annona muricata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan adalah metode *in vitro* yakni metode sumuran.

Perolehan Ekstrak

Ekstrak *Annona muricata* diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi, Daun sirsak yang diperoleh sebanyak 700 gram dicuci bersihkan. Kemudian dikeringkan, diremas, dan dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk lalu direndam dalam etanol 70% selama 3x24 jam, melalui penyaringan filtrat. Kemudian semua filtrat digabung, dan

diuapkan atau dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 39 derajat Celsius dengan kecepatan rotasi sebesar 50 rpm hingga diperoleh ekstrak.

Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini dibagi menjadi beberapa kelompok yaitu 5 variasi konsentrasi Ekstrak Daun Sirsak (20%, 40%, 60% 80% dan 100%), kelompok kontrol positif antibiotic serta kelompok negatif menggunakan etanol. Jumlah ulangan setiap kelompok diperoleh melalui perhitungan dengan rumus $(t - 1) (r - 1) \geq 15$ dimana T adalah jumlah perlakuan dan r adalah jumlah pengulangan (Federer, 1983). Hasil yang didapatkan berdasarkan perhitungan dan jumlah kelompok yang akan diteliti (5) didapatkan pengulangan sejumlah 4 kali pengulangan.

Analisa Statistik

Metode pengolahan data dilakukan dengan perangkat komputer IBM SPSS 22.0. Berdasarkan jenis data yang diolah pada penelitian ini, analisa yang digunakan adalah analisa metrik terhadap metrik, yang akan menghasilkan grafik *scatterplot* untuk mengindikasikan kenaikan atau penurunan secara gradien matematis pada setiap 1% kekuatan ekstrak tumbuhan sirsak terhadap Zona Hambat Cakram *S.aureus*. Selain itu, uji hipotesis pada penelitian ini melibatkan ‘95% Confidence Interval’ ($p < 0.05$) dan uji signifikansi terhadap nilai *Pearson’s r*

Prosedur Penelitian

Peneliti membuat beberapa konsentrasi ekstrak daun Sirsak yang akan dilakukan penelitian. Dan menyiapkan larutan kontrol perbandingan yaitu terdiri dari antibiotik antibiotik sebagai kontrol positif, dan larutan etanol sebagai kontrol negatif. Pemberian biakan pada media menggunakan metode dua lapis *base layer* untuk media utama dan *seed layer* berisi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada setiap media uji yang sudah diinokulasi dibuat lubang sumuran dengan

diameter 5mm dan kedalaman 4 mm menggunakan *perforator* dan setiap lubang diberi konsentrasi ekstrak, kontrol negative berupa akuades, dan kontrol positif antibiotik siprofloksasin. Media uji yang sudah diberikan perlakuan diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°. Setelah diinkubasi, media diamati untuk melihat bentuk zona hambat pada sekeliling kertas cakram serta dihitung menggunakan jangka sorong digital dari tepi ke tepi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji Fitokimia

Uji Fitokimia adalah tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji untuk menentukan adanya senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat. Tabel 1 menunjukkan hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*).

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak

Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil
Alkaloid	+
Saponin	+
Tanin	+
Fenolik	+
Flavonoid	+
Triterpenoid	+
Glikosida	+
Steroid	+

Pembahasan

Hasil uji fitokimia pada penelitian ini menunjukkan semua metabolit yang mampu diuji oleh peneliti adalah bernilai positif. hasil ini sesuai penelitian Agu dan Okolie (2017) tentang adanya flavonoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid, triterpenoid, glikosida, dan saponin pada

daun sirsak (*Annona muricata*)(10). Daun sirsak memiliki komponen lipid terbanyak dibandingkan oleh bagian tumbuhan lain dan *Acetogenin* merupakan derivat dari rantai panjang asam lemak (C32 atau C34). Pernyataan ini memperkuat penelitian komposisi lipid pada daun sirsak¹⁰⁻¹²

Pengukuran Zona Hambat

Hasil dari berbagai konsentrasi ekstrak dicantumkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil Deskriptif Zona Hambat Ekstrak Daun Sirsak

Percobaan	20%	40%	60%	80%	100%
1	3,8	6,3	9,8	12,3	12,0
2	2,6	5,2	8,3	12,0	6,6
3	0,9	6,0	7,7	12,0	13,4
4	2,8	5,6	9,8	12,2	4,7
Median	2,7	5,8	9,05	12,1	9,3
Rata-rata	2,52	5,775	8,9	12,125	9,175

Tabel 2 menunjukkan adanya tren kenaikan rata-rata diameter zona hambat pada variasi konsentrasi ekstrak sirsak 20%-80%, namun penurunan diameter zona hambat ditemukan pada konsentrasi ekstrak sirsak 100% (dari 12,125 mm ke 9,175 mm). Pada biakan *S. aureus* yang diberikan konsentrasi ekstrak sirsak 100% didapatkan diameter zona hambat yang kecil pada percobaan kedua dan keempat senilai 6,6 dan 4,7 mm dibandingkan dengan percobaan lainnya.

Pada penelitian ini, didapatkan hasil data korelasi yang signifikan dengan nilai koefisien (r) 0,855, melebihi *critical value* korelasi *Pearson* (*Pearson's r*) senilai 0.388 (jumlah sampel $n=24$) dan nilai variansi (r^2) sebesar = 0,731 dengan catatan nilai signifikansi yang digunakan adalah pada $\alpha = 0,05$.

Tabel 3 Hasil analisis korelasi Pearson

Konsentrasi Ekstrak Daun Sirsak

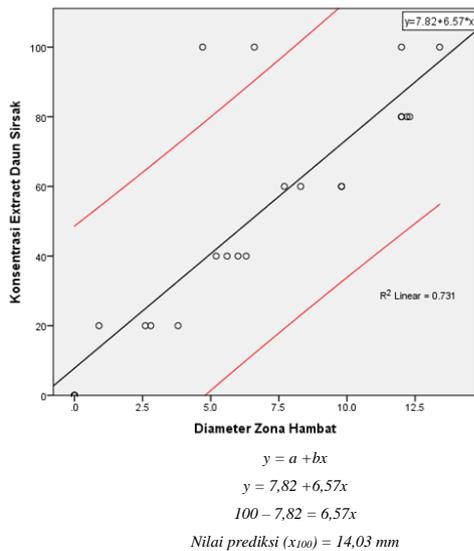
Diameter Zona Hambat	R = 0,855
	$p < 0,00001$
	$n = 24$
Uji korelasi Pearson	

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan adanya aktifitas antibakteri dengan pola fluktuatif dari rata-rata zona hambat sumuran per peningkatan jumlah konsentrasi dengan variasi 20%, 40%, 60%, 80, dan 100% pada tabel deskriptif. Memberikan kesan konsentrasi yang paling efektif adalah konsentrasi ekstrak 80%, dengan catatan data pada tabel 2 hanya memberikan gambaran rata-rata saja tanpa pengolahan uji.

Analisa statistik. korelasi dilakukan untuk memastikan pola rata-rata data pada tabel 2. Alasan peneliti mempertimbangkan hal tersebut karena dilihat dari kelompok konsentrasi 100% pada pengujian kedua dan keempat memiliki nilai diameter yang sangat rendah (6,6 mm dan 4,7 mm), yang merupakan *outlier* dari analisa statistik. Hal ini menyebabkan nilai rata-rata kelompok konsentrasi 100% lebih rendah dari 80% yang tentunya memberikan kesan penurunan. Setelah dilakukan uji statistik, peneliti bisa mendapatkan nilai prediksi berdasarkan hasil interpretasi dari *scatterplot* yang menyatakan nilai positif. Hal ini memperlihatkan bahwa prediksi diameter zona hambat akan terus bertambah seiring naiknya konsentrasi karena dengan nilai variansi 0.731 mendekati nilai satu akan menunjukkan interpretasi grafik *Scatterplot* yang akan terus naik. Berdasarkan analisa statistik tersebut, jika akan dilakukan pengulangan pada penelitian ini, maka nilai variansi akan tetap positif dan mengalami kenaikan. Hal ini diperkuat dengan perhitungan prediksi dengan asumsi menggunakan rumus grafik pada bagan 4.

Bagan 1 Grafik Scatterplot dan nilai prediksi



Kemungkinan besar prediksi konsentrasi 100% (14,03mm) akan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan konsentrasi 80% apabila dilakukan perlakuan penelitian yang sama kedepannya. Dengan menggunakan rumus grafik bagan 4, peneliti bisa menentukan perbesaran zona hambat minimum untuk setiap kenaikan 1% konsentrasi dengan nilai sebesar 0,15 mm.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Viothini *et.al.*, peneliti menyatakan bahwa ekstrak daun sirsak pada pelarut metanol mempunyai efek antimikroba yang lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak akuades. Metode penelitian dilakukan dengan ukuran sediaan yang berbeda yakni ekstrak daun methanol dan ekstrak akuades yang didapatkan dari tanaman sirsak sebesar 5 kg dengan variasi konsentrasi 50µl, 100µl, dan 200µl⁹. Karakteristik hasil penelitian berupa tabel deskriptif juga menunjukkan adanya *trend* kenaikan. Namun karena variasi konsentrasi hanya ada tiga kelompok, data tersebut tidak bisa dilakukan analisa metrik dengan metrik untuk melihat prediksi nilai penelitian Viothini. Penelitian Viothini juga tidak dilakukan uji Analisa statistik. Untuk penelitian kedepannya diharapkan bisa

menggunakan bahan baku yang lebih banyak dari penelitian ini dan dengan acuan perhitungan grafik *scatterplot* bisa mendapatkan hasil diameter zona hambat yang lebih besar.

Kemit *et.al.* melakukan penelitian terhadap fraksi pelarut ekstraksi dan membuktikan dengan membandingkan pelarut metanol 90% dan etanol 90% terhadap perlakuan durasi maserasi beragam pada tanaman alpukat. Hasil dari penelitian membuktikan pelarut etanol memiliki hasil rendemen metabolit flavonoid yang lebih banyak dibandingkan metanol pada metode ekstraksi maserasi. Flavonoid merupakan senyawa bersifat polar sehingga dibutuhkan pelarut yang bersifat polar seperti metanol, etanol, aseton, dan air. Etanol memiliki sifat kepolaran yang lebih polar dibandingkan metanol sehingga bisa mendapatkan flavonoid.¹³ Hal diatas merupakan alasan mengapa peneliti lebih menggunakan pelarut etanol dibandingkan metanol pada proses ekstraksi

KETERBATASAN

Penelitian ini memiliki keterbatasan. Jumlah sampel variasi konsentrasi ekstrak masih cenderung sedikit berhubung biaya untuk alat dan media terbatas. Selain itu, efek dosis ekstrak akan bervariasi bila dilakukan pada percobaan terhadap manusia. *Human error* seperti kesalahan saat sedang dalam proses pengisian ekstrak yaitu melebihi ruang lubang sumuran yang berakibatkan ekstrak tumpah keluar dari lubang sumuran dan menyebar pada media sehingga menunjukkan hasil diluar ekspektasi peneliti

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang sudah dipaparkan, dapat ditarik kesimpulan bahwa konsentrasi yang paling efektif pada percobaan dengan metode sumuran adalah pada konsentrasi 80%. Data korelasi yang signifikan dengan nilai koefisien (r) 0,855, melebihi *critical value* korelasi *Pearson*. Terdapat korelasi antara perbesaran diameter zona hambat untuk

setiap kenaikan 1% konsentrasi dengan perbesaran senilai 0,15 mm

DAFTAR PUSTAKA

1. Idelevich EA, Kreis C, Bettina L, Peters G. Staphylococcus aureus - Associated Musculoskeletal Infections. *Curr Top Microbiol Immunol Staphylococcus aureus*. 2016;409:229–62.
2. Bergin SP, Holland TL, Jr VGF, Tong SYC. Bacteremia, Sepsis, and Infective Endocarditis Associated with Staphylococcus aureus. *Curr Top Microbiol Immunol Staphylococcus aureus*. 2015;409:263–96.
3. Olaniyi R, Pozzi C, Grimaldi L, Bagnoli F. Staphylococcus aureus - Associated Skin and Soft Tissue Infections : Anatomical Localization , Epidemiology , Therapy and Potential Prophylaxis. *Curr Top Microbiol Immunol Staphylococcus aureus*. 2016;409(October):199–227.
4. Choo EJ, Chambers HF. Treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia. *Infect Chemother*. 2016;48(4):267–73.
5. Chambers HF, Deleo FR. Waves of Resistance: Staphylococcus aureus in the Antibiotic Era. 2010;7(9):629–41.
6. Ononiwu FO, Banwo AS, Akintokun OA, Obaseki OS. Antimicrobial activities and phytochemical properties of *Annona muricata* leaf. *Journal Phys Life Sci*. 2017;5(2):40–9.
7. Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G. *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses , Isolated Acetogenins and Biological Activities. 2015;15625–58.
8. Pai BHM, Rajesh G, Shenoy R, Rao A. Anti-microbial Efficacy of Soursop Leaf Extract (*Annona muricata*) on Oral Pathogens : An In-vitro Study. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(11):1–4.
9. Vinothini R, Growther L. Antimicrobial and Phytochemical Analysis of Methanolic and Aqueous Extract of *Annona muricata* (Leaf and Fruit). *Int J Curr Microbiol Applid Sci* [Internet]. 2016;5(10):617–25. Diambil dari: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.510.069>
10. Agu KC, Okolie PN. Proximate composition , phytochemical analysis , and in vitro antioxidant potentials of extracts of *Annona muricata* (Soursop). 2017;(April):1029–36.
11. Smith RE, Tran K, Richards KM. Bioactive Annonaceous Acetogenins [Internet]. 1 ed. Vol. 41, *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier B.V.; 2014. 95-117 hal. Diambil dari: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63294-4.00004-8>
12. Kossouh C, Moudachirou M, Adjakidje V, Chalchat J, Figuérédo G. Essential Oil Chemical Composition of *Annona muricata* L . Leaves from Benin. *J Essent Oil Res* [Internet]. 2007;19(April 2006):307–9. Diambil dari: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2007.9699288>
13. Kemit N, Widarta IWR, Nociantri KA. Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). *J Ilmu dan Teknol Pangan*

[Internet]. 2017;5(2). Diambil dari:
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/itepa/article/view/27509/17418>