

Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Amnona muricata* L.) Terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* Secara *in vitro*

Liem Claudia Immanuel¹, Sugiarto Puradisastra², Fanny Rahardja³

1. Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Bandung

2. Bagian Farmakologi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung

3. Bagian Mikrobiologi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha
Jl. Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Streptococcus pneumoniae, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri-bakteri penyebab infeksi saluran pernafasan. Terapi antibiotik secara irasional telah menimbulkan berbagai efek samping serta resistensi. Daun sirsak merupakan bahan alam yang dapat digunakan sebagai terapi alternatif yang mempunyai efek samping minimal dan diharapkan potensi yang lebih besar.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun sirsak berefek antimikroba terhadap bakteri *S. pneumoniae*, *C. diphtheriae*, *P. aeruginosa* dan *K. pneumoniae*.

Desain penelitian bersifat laboratorik eksperimental secara *in vitro* menggunakan agar *Müller Hinton* dengan metode difusi. Bahan-bahan yang digunakan : ekstrak etanol daun sirsak konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%; kontrol positif : cakram gentamisin, eritromisin dan ampisilin; serta kontrol negatif yaitu cakram kosong steril. Data yang diukur adalah diameter zona inhibisi dalam milimeter. Analisis data menggunakan uji ANAVA satu arah dilanjutkan uji LSD dengan $\alpha=0.05$.

Hasil penelitian didapatkan zona inhibisi oleh ekstrak etanol daun sirsak terhadap *C. diphtheriae* pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% berbeda sangat bermakna dibandingkan kontrol -, semua dengan $p=0,000$. Perbandingan dengan kontrol positif juga didapatkan hasil yang sangat bermakna semua dengan $p=0,000$. Sedangkan terhadap bakteri lainnya tidak menunjukkan adanya zona inhibisi.

Simpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sirsak mempunyai efek antimikroba terhadap *C. diphtheriae* tetapi tidak berefek terhadap *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* dan *K. pneumoniae*.

Kata kunci : ekstrak etanol daun sirsak, *Streptococcus pneimoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, zona inhibisi

The Antimicrobial Effects of the Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Against *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* in vitro

Liem Claudia Immanuel¹, Sugiarto Puradisastra², Fanny Rahardja³

1. Faculty of Medicine, Maranatha Christian University, Bandung

2. Department of Pharmacology, Maranatha Christian University, Bandung

3. Department of Microbiology, Maranatha Christian University, Bandung

***Faculty of Medicine, Maranatha Christian University
Jl. Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia***

Streptococcus pneumoniae, Corynebacterium diphtheriae, Pseudomonas aeruginosa and Klebsiella pneumoniae are bacteria causing respiratory tract infection. Irrational treatment using antibiotics have side-effects as well as creating resistance. Soursop leaves is a natural substance which can be used as alternative therapy that has less toxicity and more potency.

*The objective of this research is to find out if the ethanol extract of soursop leaves has antimicrobial effects against *S. pneumoniae*, *C. diphtheriae*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*.*

The design of this research is an in vitro laboratory experiment using the Mueller Hinton agar with a diffusion method. The measured data is the inhibition zone diameter in millimeters. Materials used : ethanol extract of soursop leaves with the concentration of 50%, 25%, 12.5%, and 6.25%; with the positive control variable such as gentamycin disk, erythromycin disk, and ampicilin disk; and the negative control variable is empty sterile disk. The data is analyzed using one way ANOVA with LSD as the post-hoc analysis.

*The result of this research is the inhibition zone of the ethanol extract of soursop leaves against *C. diphtheriae* with 50%, 25%, 12.5% and 6.25% concentration was different compared towards the negative control and statistically significant all of them with $p=0.000$. Compared to positive control the result is also statistically significant with $p=0.000$. There is no inhibition zone towards *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae**

*The conclusion of this research is the ethanol extract of soursop leaves has antimicrobial effects towards *C. diphtheriae* but has no effect towards the other bacteria.*

Keywords : *ethanol extract of soursop leaves, Streptococcus pneumoniae, Corynebacterium diphtheriae, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, inhibition zone*

PENDAHULUAN

Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA) menjadi salah satu penyebab utama angka kematian di berbagai Negara. Data pada 88 negara dari lima benua dengan populasi total sekitar 1,2 milyar penduduk menunjukkan bahwa kematian akibat ISPA pada tahun 1972 mencapai 666.000 jiwa. Pneumonia baik bakterial maupun viral menyebabkan 75,5% kematian dari seluruh kematian akibat ISPA. Persentase kematian akibat ISPA yaitu sekitar 6,3% dari seluruh penyebab kematian yang ada. Bayi dan orang tua merupakan golongan yang menduduki angka kematian yang paling tinggi. Anak-anak berisiko tinggi terkena ISPA karena meningkatnya kemungkinan infeksi silang, sistem imun yang belum sempurna, serta tidak tersedianya atau berlebihannya pemakaian antibiotik.^{1,2}

ISPA dapat disebabkan oleh virus maupun bakteri. ISPA yang disebabkan oleh virus biasanya tidak memerlukan pengobatan. Bakteri-bakteri yang dapat menyebabkan ISPA antara lain adalah *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* yang dapat menyebabkan penyakit pneumonia. *Corynebacterium diphtheriae* juga merupakan bakteri lainnya yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran nafas atas atau biasa disebut penyakit difteri.³

Pengobatan ISPA yang disebabkan oleh bakteri umumnya adalah dengan menggunakan obat antibiotik. Akan tetapi penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan berulang-ulang menyebabkan suatu jenis bakteri menjadi resisten terhadap obat. Fenomena resistensi kuman terhadap antibiotik yang kian menguatirkan kembali disuarakan para pakar kesehatan. Alternatif lain dari bahan alami sebagai pengganti obat antibiotik mulai dicari misalnya madu, teh hijau, bawang putih, termasuk salah satu diantaranya adalah daun sirsak.⁴

Daun sirsak mengandung senyawa monotetrahidrofurana, *acetogenin*, seperti anomurisin A dan B, *annonacin*, dan goniotlamin. Khasiat senyawa-senyawa

ini untuk pengobatan berbagai penyakit. Daun dan batang sirsak juga mengandung senyawa tannin, fitosterol, kalsium oksalat, serta alkaloid murisin.⁵

Daun sirsak saat ini marak dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk pengobatan kanker, yakni dengan mengkonsumsi air rebusan daun sirsak. Selain untuk pengobatan kanker, tanaman sirsak juga dimanfaatkan untuk antimikroba, pengobatan diare, anti kejang, antijamur, antiparasit, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu, dan lain-lain.⁶

TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini antara lain adalah untuk mengetahui aktivitas antiikroba ekstrak herba daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *S. pneumoniae*, *C. diphtheriae*, *P. aeruginosa* dan *K. pneumoniae*.

ALAT, BAHAN, DAN METODE

Penelitian bersifat eksperimental laboratorium secara *in vitro* menggunakan agar Müller Hinton dengan metode difusi cakram kemudian dilakukan pengamatan zona inhibisi yang ditimbulkan oleh ekstrak etanol daun sirsak terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae*. Kontrol positif menggunakan cakram gentamisin, ampicilin dan eritromisin. Kontrol negatif menggunakan cakram kosong steril.

a. Pembuatan ekstrak

Daun sirsak didapatkan dari daerah Paku Haji, Bandung Barat dikeringkan, ditimbang dan dihaluskan. Kemudian diekstrak dengan menggunakan pelarut etanol.

b. Media Agar

Media agar yang digunakan adalah Mueller Hinton Agar (MHA) dan Lempeng Agar Darah.

c. Perisapan Mikroorganisme

Bakteri yang digunakan adalah *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan

Klebsiella pneumoniae yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha Bandung. Mikroorganisme uji ditanam pada Lempeng Agar Darah untuk pembiakan.

d. Pengenceran ekstrak etanol daun sirsak
Ekstrak etanol daun sirsak diecerkan dengan menggunakan aquades menjadi empat konsentrasi yaitu 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%.

e. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Sebanyak 100 μ L suspensi mikroba uji yang sudah dibuat sesuai standar 0,5 McFarland ditanamkan pada medium MHA secara *spread plate* menggunakan *spreader* L, kemudian diletakkan cakram kosong steril. Selanjutnya dengan

menggunakan mikropipet, segera teteskan masing-masing 20 μ L ekstrak etanol daun sirsak dengan empat konsentrasi. Pada cawan petri yang lain diberi cakram antibiotik standar. Kemudian cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Bakteri *C. diphtheriae* diinkubasi selama 24-48 jam. Pengujian ini dilakukan secara *duplo*.

f. Pengukuran zona inhibisi

Pengukuran diameter zona inhibisi dilakukan secara visual menggunakan jangka sorong dan dalam satuan milimeter.

g. Analisis data

Analisis data menggunakan ANAVA satu arah dengan $\alpha = 5\%$, dilanjutkan dengan Multiple Comparisson Fisher LSD.

HASIL

Tabel 1 Diameter zona inhibisi terhadap *Streptococcus penumoniae*

Kuman <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Ekstrak Etanol Daun Sirsak				Kontrol Positif (Ampisilin)	Kontrol negatif
	50%	25%	12.5%	6.25%		
Percobaan I (mm)	-	-	-	-	41.61	0
Percobaan II (mm)	-	-	-	-	46.51	0
Percobaan III (mm)	-	-	-	-	45.61	0
Percobaan IV (mm)	-	-	-	-	48.06	0
Rata-rata (mm)					45.44	

Tabel 2 Diameter zona inhibisi terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Kuman <i>Pseudomonas aseruginosa</i>	Ekstrak Etanol Daun Sirsak				Kontrol Positif (Gentamsin)	Kontrol negatif
	50%	25%	12.5%	6.25%		
Percobaan I (mm)	-	-	-	-	25.72	0
Percobaan II (mm)	-	-	-	-	24.76	0
Percobaan III (mm)	-	-	-	-	23.93	0
Percobaan IV (mm)	-	-	-	-	23.12	0
Rata-rata (mm)					24.39	

Tabel 3 Diameter zona inhibisi terhadap *Klebsiella pneumoniae*

Kuman <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ekstrak Etanol Daun Sirsak				Kontrol Positif (Gentamisin)	Kontrol negatif
	50%	25%	12.5%	6.25%		
Percobaan I (mm)	-	-	-	-	22.15	0
Percobaan II (mm)	-	-	-	-	19.35	0
Percobaan III (mm)	-	-	-	-	17.76	0
Percobaan IV (mm)	-	-	-	-	21.10	0
Rata-rata (mm)					19.84	

Tabel 4 Diameter zona inhibisi terhadap *Corynebacterium diphtheriae*

Kuman <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Ekstrak Etanol Daun Sirsak				Kontrol Positif (Eritromisin)	Kontrol negatif
	50%	25%	12.5%	6.25%		
Percobaan I (mm)	7.43	7.40	7.24	7.07	59.50	0
Percobaan II (mm)	8.89	8.68	8.84	8.35	59.08	0
Percobaan III (mm)	15.28	13.98	11.25	10.87	62.06	0
Percobaan IV (mm)	10.18	7.38	8.57	9.43	57.03	0
Rata-rata (mm)	10.45	9.36	8.98	8.93	59.42	

Tabel 5 Anava satu arah untuk *C. diphtheriae*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9260.602	5	1852.120	356.536	.000
Within Groups	93.506	18	5.195		
Total	9354.108	23			

Tabel 6 Post Hoc Multiple Comparisson LSD untuk *C. diphtheriae*

Kelompok	Ekstrak 50% (10.445)	Ekstrak 25% (9.360)	Ekstrak 12.5% (8.975)	Ekstrak 6.25% (8.930)	Kontrol -	Kontrol + Eritromisin (59.418)
Ekstrak 50% (10.445)		TB	TB	TB	** $p=0,000$	** $p=0,000$
Ekstrak 25% (9.360)			TB	TB	** $p=0,000$	** $p=0,000$
Ekstrak 12.5% (8.975)				TB	** $p=0,000$	** $p=0,000$
Ekstrak 6.25% (8.930)					* $p=0,000$	** $p=0,000$
Kontrol -						** $p=0,000$
Kontrol + Eritromisin (59.418)						

Keterangan: TB = Tidak bermakna; ** = Sangat bermakna

PEMBAHASAN

Tabel 1, 2, dan 3 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak tidak memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* karena tidak didapatkan adanya zona inhibisi disekitar cakram yang telah diberi ekstrak etanol daun sirsak yang masing-masing memiliki konsentrasi berbeda. Hal ini kemungkinan dikarenakan karakteristik struktur tiap-tiap bakteri berbeda sehingga kandungan zat aktif dalam daun sirsak tidak cukup kuat untuk menginhibisi pertumbuhan bakteri.

Tabel 4 menunjukkan bahwa rerata zona inhibisi terbesar pada *C. diphtheriae* dihasilkan pada konsentrasi 50% dari ekstrak etanol daun sirsak. Semakin kecil konsentrasi ekstrak, zona inhibisi yang dihasilkan juga semakin kecil. Zona hambat terkecil ditemukan pada konsentrasi 6,25%. Hal ini dimungkinkan karena semakin kecil konsentrasi ekstrak dalam larutan, semakin kecil pula kandungan zat-zat aktif tertentu yang menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil analisis *multiple comparisson LSD*, menunjukkan perbandingan konsentrasi 50% hampir seluruhnya tidak bermakna dengan $p > 0,05$ kecuali terhadap kontrol + didapatkan hasil sangat bermakna dengan $p = 0,000$. Pada perbandingan terhadap konsentrasi 25%, 12,5% dan 6,25% juga didapatkan hasil yang sama yaitu hampir seluruhnya tidak bermakna kecuali terhadap kontrol +. Perbandingan dengan kontrol +, didapatkan hasil sangat bermakna pada perbandingan terhadap semua konsentrasi dengan $p = 0,000$. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* tetapi dengan potensi yang lebih rendah dibandingkan Eritromisin. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa konsentrasi satu sama lain memiliki potensi antimikroba yang setara.

Bahan aktif dalam daun sirsak yang memiliki aktivitas antimikroba memiliki

mekanisme yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam hal ini bahan aktif yang dikandung daun sirsak belum diketahui secara pasti yang berpotensi sebagai antimikroba utama. Beberapa bahan aktif yang diduga dapat berperan adalah flavonoid. Flavonoid dapat menyebabkan rusaknya susunan dan perubahan mekanisme permeabilitas dari dinding sel bakteri, sedangkan alkaloid diduga dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk atau tidak terbentuk secara sempurna.⁷ Selain flavonoid dan alkaloid, polifenol merupakan kandungan zat aktif lainnya. Polifenol merupakan senyawa fenol, turunan fenol bekerja sebagai antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Pada konsentrasi rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan lemah, diikuti penetrasi fenol kedalam sel dan menyebabkan denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein sel sehingga membran sel mengalami lisis. Turunan fenol juga dapat mengubah permeabilitas membran sel, dapat menimbulkan kebocoran sel sehingga bakteri mengalami kematian.⁸

SIMPULAN

Ekstrak etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) berefek antimikroba terhadap *Corynebacterium diphtheriae*, tetapi tidak berefek terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae*.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa saran sebagai berikut :

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek antimikroba ekstrak etanol daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap bakteri lainnya.
- Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai konsentrasi hambat minimal daun Sirsak baik terhadap

Corynebacterium diphtheriae maupun bakteri lainnya.

- Penelitian dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak lebih kecil dari 6,25%.
- Perlu dilakukan penelitian mengenai struktur *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* dan *K. pneumoniae* yang menyebabkan daun sirsak tidak berefek terhadap bakteri tersebut.
- Ekstraksi daun sirsak menggunakan pelarut selain etanol.
- Perlu dilakukan penelitian aktivitas antimikroba menggunakan bagian lain dari tumbuhan sirsak.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Bulla, A. and Hitze, K. L.** Acute Respiratory Infections : a review. 2011.
2. **Anonim.** Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA). Dunia Kedokteran dokterkecil. [Online] 2011. <http://dokterkecil.wordpress.com/2011/03/>.
3. Faktor - Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian ISPA di Puskesmas Pati I Kabupaten Pati Tahun 2006. **Suhandayani, I.** Semarang : s.n., 2007.
4. **Kartika, Unoviana.** Teh dan Madu bakal Gantikan Antibiotik. Jakarta : Kompas, 2012.
5. **Suranto, Adji.** Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit. Jakarta : Pustaka Bunda, 2011.
6. **Mardiana, L. and Ratnasari, J.** Ramuan dan Khasiat Sirsak. Jakarta : Penebar Swadaya, 2011.
7. Daya Hambat Sari Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. **Widiana, Rina, Indriati, Gustina and Andika, Indra.** Sumatera Barat : s.n., 2012.
8. Kes Mas. **Sari, Yeni Dianita, Djannah, Sitti Nur and Nurani, Laela Hayu.** 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara in Vitro Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya.