

UJI EFEK ANTIBAKTERI REBUSAN DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Jafril Rezi, Rini Andarwati, Zulfa Ismaniar Fauzi

jurusan Farmasi Poltekkes Medan

Abstrak

Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Antibakteri telah memberikan kontribusi yang efektif terhadap kontrol infeksi *Staphylococcus aureus*. Salah satu tanaman tradisional yang dianggap memiliki khasiat antibakteri adalah daun sirsak (*Annona muricata L.*). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efektivitas rebusan daun sirsak (*Annona muricata L.*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri adalah sel prokariotik dan uniselular. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif dan dapat menyebabkan penyakit diare, nyeri otot, dan penyakit kulit seperti jerawat, borok dan bisul. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental secara uji mikrobiologi dengan pengambilan sampel secara purposive sampling. Sampel penelitian adalah daun sirsak (*Annona muricata L.*) yang diambil dari daerah Perumnas Mandala - Medan. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi yaitu menggunakan media agar yang telah ditanami bakteri, kemudian dibuat 5 hole. Empat hole ditetesi larutan uji yaitu rebusan daun sirsak 10%, 20%, 30%, 40% dan satu hole ditetesi kontrol negatif yaitu aquadest. Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV, zona hambatan antibakteri yang memuaskan adalah 14-16 mm. Dari data hasil pengamatan dapat dilihat bahwa rebusan daun sirsak 10% dan 20% belum dapat dikatakan sebagai antibakteri, tetapi sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Rebusan daun sirsak 30% dan 40% telah dapat dikatakan sebagai antibakteri dengan masing-masing diameter zona hambatnya 14,8 mm dan 18,5 mm. Kontrol negatif yaitu aquadest ternyata tidak memiliki efek antibakteri.

Kata Kunci : *Staphylococcus aureus*, Antibakteri, Daun Sirsak, Rebusan

Latar Belakang

Banyak sekali tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, diantaranya daun sirsak (*Annona muricata L.*). Tanaman sirsak banyak digunakan sebagai tanaman obat, karena tanaman ini memiliki khasiat obat dan digunakan dalam penyembuhan maupun pencegahan penyakit.

Penggunaan sirsak sebagai obat-obatan sebenarnya bukan merupakan suatu hal yang baru di Indonesia. Secara turun temurun, sirsak telah digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia untuk mengobati beberapa penyakit. Bagi etnis Sunda daun sirsak digunakan untuk menghilangkan mual, bisul, dan rematik. Etnis Kutai memilih daun sirsak untuk mengobati diare. Namun kini penelitian menemukan daun sirsak mampu membunuh sel kanker, bahkan daun sirsak ini lebih ampuh dibandingkan kemoterapi dalam pengobatan kanker (Wicaksono, 2012). Daun sirsak ini juga digunakan untuk mencegah dan mengobati abses, sebagai obat diabetes, mengatasi demam, mengobati borok, bisul, kurap, sebagai obat penenang, mengatasi jantung berdebar dan gangguan saluran kencing (Wicaksono, 2012). Selain itu daun sirsak juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. (Trubus Vol.10).

Bakteri merupakan mikroorganisme bersel tunggal yang mempunyai bentuk dan susunan sel sederhana, umumnya bersifat patogen yaitu dapat menghasilkan toksin berupa enterotoksin yang dapat

mencemari makanan dan apabila dikonsumsi manusia akan menimbulkan penyakit. Salah satu bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus* (Pratiwi, 2008). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, bersifat hidup secara aerob fakultatif, tidak mempunyai flagel dan spora.

Permasalahan dalam penelitian ini apakah ada efek antibakteri rebusan daun sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pada konsentrasi rebusan daun sirsak (*Annona muricata L.*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Jenis Penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental secara uji mikrobiologi, dimana dilakukan pada 2 kelompok yaitu: kelompok 1 : Kelompok bakteri *Staphylococcus aureus* yang diberikan rebusan daun sirsak dengan konsentrasi yang berbeda dan Kelompok 2 :Bakteri *Staphylococcus aureus* yang diberikan aquadest. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan, Jln. Air langga No. 20 Medan. Penelitian dilakukan selama 2 minggu.

Populasi pada penelitian ini adalah daun sirsak yang diambil dari daerah Perumnas Mandala Medan. Sampel pada penelitian ini adalah daun sirsak muda, daun yang diambil adalah daun ketiga sampai kelima dari ujung.

Daun sirsak dibersihkan dari pengotoran, dicuci dengan air bersih mengalir lalu ditiriskan. Iris daun sirsak dengan lebar 0,3 cm (3 mm). Keringkan pada suhu kamar, terlindung dari sinar matahari langsung kemudian daun yang sudah kering disimpan di dalam wadah plastik

Alat yang digunakan autoklaf, batang pengaduk, cawan petri, erlenmeyer 100 ml, erlenmeyer 75 ml, gelas ukur, incubator, jangka sorong, kain flannel, kapas, kawat ose, kertas perkamen, labu tentukur, lampu spiritus, mikroskop, neraca analitik, oven, panci penangas, air pencetak lubang, pipet volume 1 ml, rak tabung reaksi, spidol, tabung reaksi, tali atau benang dan thermometer. Bahan yang digunakan daun sirsak (*Annona muricata L.*), aquadest, Media Muller Hinton Agar (MHA), Media Manitol Salt Agar (MSA), Nutrient Agar (NA), larutan NaCl 0,9%, larutan Fuchin, larutan Kristal Violet, larutan Lugol, Suspensi Mc. Farland

Pembuatan rebusan daun sirsak adalah Konsentrasi rebusan daun sirsak (*Annona muricata L.*) yang akan dibuat adalah 10%, 20%, 30%, 40%.

Untuk rebusan daun sirsak 40% adalah 40 gram daun sirsak yang kering, kemudian dimasukkan ke dalam panci dan diberi aquadest sebanyak 100 ml, panaskan di atas penangas air sampai suhu 90⁰ C selama 30 menit sambil sesekali diaduk, kemudian serkai dengan menggunakan kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume rebusan 100 ml. a. Untuk membuat 5 ml rebusan daun sirsak 30%, dibuat dengan cara pengenceran dari rebusan daun sirsak 40% yaitu:

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 40\% &= 5 \cdot 30\% \\ V_1 &= 3,75 \text{ ml} \end{aligned}$$

Maka pipet 3,75 ml rebusan daun sirsak 40%, tambahkan aquadest sampai 5 ml

b. Cara yang sama dengan rebusan daun sirsak 30%, maka untuk membuat 5 ml rebusan daun sirsak 20%, diambil sebanyak 2,5 ml. Maka pipet 2,5 ml rebusan daun sirsak 40%, tambahkan aquadest sampai 5 ml

c. Untuk membuat 5 ml rebusan daun sirsak 10% diambil 1,25 ml.

Maka pipet 1,25 ml rebusan daun sirsak 40%, tambahkan aquadest sampai 5 ml

Prosedur Kerja 1. Media Manitol Salt Agar (MSA) adalah: jumlah media yang harus dilarutkan dalam 1 liter aquadest pada etiket adalah 111 g/L. Banyaknya MSA yang diperlukan untuk 50 ml adalah :

$$\frac{50 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 111 \text{ g} = 5,55 \text{ g}$$

Pembuatan :

1. Timbang MSA sebanyak 5,55 g
2. Masukkan kedalam erlenmeyer, larutkan dengan aquadest sebanyak 50 ml
3. Panaskan sampai mendidih
4. Angkat dan tutup Erlenmeyer dengan kapas, lapiasi dengan kertas perkamen, kemudian ikat dengan benang
5. Sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 15 menit

6. Setelah steril, angkat dari autoklaf dengan perlahan-lahan dan hati-hati.

7. Dinginkan, lalu buka kertas perkamen yang diikatkan pada Erlenmeyer kemudian tuang kedalam cawan petri secara aseptis.

Media Nutrien Agar (NA)

Jumlah media yang harus dilarutkan dalam 1 liter aquadest pada etiket adalah 20 g/L. Banyaknya Nutrien Agar yang dibutuhkan untuk 20 ml adalah:

$$\frac{20 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 20 \text{ g} = 0,4 \text{ g}$$

Pembuatan:

1. Timbang Nutrien Agar sebanyak 0,4 g
2. Masukkan kedalam erlenmeyer, larutkan dengan aquades sebanyak 20 ml
3. Panaskan sampai mendidih
4. Angkat, lalu bagi dalam beberapa tabung (sesuai kebutuhan), tutup dengan kapas, lapiasi dengan kertas perkamen kemudian ikat dengan benang.
5. Sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 15 menit. Setelah steril, angkat dari autoklaf dengan perlahan-lahan dan hati-hati.
6. Dinginkan, buka kertas perkamen yang diikatkan pada tabung kemudian miringkan tabung yang berisi Nutrien Agar untuk memperoleh agar miring.
7. Biarkan sampai membeku, setelah itu lakukan penanaman bakteri dengan menggosokkan bakteri secara zig-zag pada media.

Media Mueller Hilton Agar (MHA)

Jumlah media yang harus dilarutkan dalam 1 liter aquadest pada etiket adalah 34 g/L. Banyaknya MHA yang diperlukan untuk 100 ml adalah:

$$\frac{100 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 34 \text{ gram} = 3,4 \text{ gram}$$

Pembuatan

1. Timbang MHA sebanyak 3,4 gram
2. Masukkan kedalam erlenmeyer, larutkan dengan aquadest sebanyak 100 ml
3. Panaskan sampai mendidih
4. Angkat dan tutup erlenmeyer dengan kapas, lapiasi dengan kertas perkamen kemudian ikat dengan benang.
5. Sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 15 menit.

Larutan NaCl 0,9%

Pembuatan:

NaCl ditimbang sebanyak 0,9 g lalu dilarutkan dengan aquadest hingga 100 ml dalam labu tentukur, kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121⁰ C selama 15 menit.

Suspensi Standar Mc. Farland

Pembuatan:

Campurkan Larutan Asam Sulfat dan Larutan Barium Klorida kedalam tabung reaksi dan dikocok homogen. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji sama dengan kekeruhan suspensi standar Mc. Farland, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 koloni/ml.

Pembiakan Bakteri

1. Ambil satu ose dari suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Kemudian tanam ke media MSA dengan cara menggoreskan
3. Inkubasi dalam inkubator pada suhu 37° C selama 18 - 24 jam
4. Amati pertumbuhan koloni pada media
5. Hasil yang diperoleh adalah koloni berwarna kuning keemasan, menunjukkan *Staphylococcus aureus* (+), lalu lakukan pengecatan gram dengan cara:
 - a. Ambil biakan bakteri yang telah berumur 18 - 24 jam, letakkan pada kaca objek yang telah diberikan aquadest lebih dahulu, lalu fiksasi
 - b. Tambahkan kristal violet, diamkan 1 - 2 menit, kemudian bilas dengan aquadest dan tambahkan larutan lugol, biarkan selama 1 menit
 - c. Setelah 1 menit lugol dibilas dengan alkohol 95%, diamkan selama 5-15 detik, bilas dengan aquadest
 - d. Tambahkan larutan Fuchsin diamkan kira-kira 20 detik, bilas dengan aquadest lalu keringkan, amati hasilnya di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40 dan 10 x 100. Jika bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus* hasil pengecatan gram yang diperoleh dibawah mikroskop adalah bakteri berwarna ungu yang merupakan bakteri gram positif membentuk gerombol seperti buah anggur.
 6. Koloni spesifik *Staphylococcus aureus* diambil satu ose lalu ditanamkan pada Nutrien Agar miring, inkubasi dalam inkubator pada suhu 37° C selama 18 - 24 jam

Pengenceran Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Masukkan kurang lebih 1 ml larutan NaCl 0,9% kedalam tabung kosong, kemudian ambil satu ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang berumur 18 - 24 jam yaitu biakan yang berasal dari Nutrien Agar
2. Tambahkan terus larutan NaCl 0,9% sampai diperoleh suspensi dengan kekeruhan yang sama dengan suspensi standar Mc. Farland, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 koloni/ml.
3. Pipet sebanyak 0,1 ml suspensi bakteri kedalam tabung reaksi kemudian tambahkan 9,9 ml larutan NaCl 0,9%, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^6 koloni/ml.

Uji Efektivitas Rebusan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Sterilkan semua alat dan bahan yang akan digunakan.
2. Buat persediaan inokulum.
3. Pipet 0,1 ml suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^6 koloni/ml ke dalam 100 ml media MHA dengan suhu 45° C - 50° C lalu kocok sampai homogen, kemudian tuang segera sebanyak 15 ml kedalam cawan petri steril, lalu biarkan memadat.
4. Buat 5 hole, 4 hole untuk rebusan daun sirsak, 1 hole untuk aquadest sebagai kontrol negatif.
5. Tetesi ke dalam hole 0,1 ml rebusan daun sirsak yang telah dibuat dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%.
6. Inkubasikan selama 24 jam pada suhu 37° C.
7. Baca hasilnya dengan mengukur zona hambatan berupa daerah yang tampak jernih yang tidak ditumbuhi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.
8. Diukur dalam satuan mm.
Percobaan dilakukan triplo yaitu dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing rebusan daun sirsak.

Hasil

Pengukuran hasil penelitian dilakukan dengan mengukur zona hambatan rebusan daun sirsak (*Annona muricata L*) yang dibuat dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dimana terlihat daerah jernih disekitar lubang difusi (*hole*), seperti yang terlihat pada tabel berikut

Tabel 4.1.1. Hasil pengamatan zona hambat rebusan daun sirsak

Konsentrasi Rebusan Daun Sirsak	Cawan Petri			Rata-rata Zona Hambatan (mm)	Zona Hambatan sebagai Antibakteri Menurut FI Ed. IV Hal 896 (mm)
	I	II	III		
10%	11,5	11,4	12,1	11,6	14 – 16
20%	12,8	13,5	12,6	12,9	
30%	14,6	14,4	15,5	14,8	
40%	17,3	19,4	18,9	18,5	
Aquadest	0	0	0	0	

Pembahasan

Pada konsentrasi 10% rata-rata zona hambatan 11,6 mm, 20% rata-rata zona hambatan 12,9 mm, 30% rata-rata zona hambatan 14,8 mm dan 40% rata-rata zona hambatan 18,5 mm.

Dari hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pemberian rebusan daun sirsak diatas, konsentrasi rebusan daun sirsak 30%

sudah dapat dikatakan sebagai antibakteri, karena menurut Farmakope Indonesia Edisi IV hal. 896 bahwa rata-rata zona hambat yang dapat dikatakan sebagai antibakteri adalah 14 – 16 mm.

Pada kontrol negatif yaitu aquadest tidak memberikan efek antibakteri apapun. Pada konsentrasi 40% memberikan efek antibakteri yang memiliki zona hambat lebih luas daripada konsentrasi 30%. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 40% memiliki rebusan daun sirsak yang lebih banyak daripada konsentrasi 30%.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dari rebusan daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat disimpulkan bahwa tiap konsentrasi memberikan luas daerah hambat yang berbeda.

1. Pada konsentrasi 10% dan 20% rebusan daun sirsak sudah terlihat adanya zona hambatan tetapi belum dapat dikatakan sebagai antibakteri.
2. Pada konsentrasi 30% sudah bersifat sebagai antibakteri dengan diameter zona hambatan 14,8 mm karena menurut Farmakope Indonesia Edisi IV, bahwa rata-rata zona hambatan yang dapat dikatakan sebagai antibakteri adalah lebih kurang 14 – 16 mm.
3. Pada konsentrasi 40% bersifat sebagai antibakteri dengan diameter zona hambat yang lebih luas yaitu sebesar 18,5 mm.
4. Semakin besar konsentrasi rebusan daun sirsak yang digunakan, maka semakin luas zona hambatan antibakteri.

Saran

1. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti khasiat lain dari daun sirsak (*Annona muricata L.*)
2. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti efek antibakteri rebusan daun sirsak

(*Annona muricata L.*) pada jenis bakteri lain seperti : *Escherichia coli* dan *Salmonella*.

3. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti efek antibakteri daun sirsak dalam bentuk sediaan lain

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta
- Hariana, A. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Edisi Ketiga*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Jawetz, E., Menick, J.L., dan Adelberg, E.A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta: Penerbit EGC
- Jhonhref. 2007. *Tanaman Obat Asli Milik Masyarakat Bangsa dan Negara*.
- Joe, W. 2012. *Dahsyatnya Khasiat Sirsak*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Pelczar, M.J, Jr. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Penerjemah: Hadioetomo, R.S, dkk. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga
- S.Warisno. 2012. *Daun Sirsak Langkah Alternatif Menggempur Penyakit*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Staf Pengajar Kedokteran Universitas Indonesia. 1993. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara
- Syamsuhidayat, S.S & Johnny, R.H. 1991. *Inventaris Tanaman Obat*.
- Departemen Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Trubus volume 10. 2012. *Herbal Indonesia Berkhasiat: Bukti Ilmiah & Cara Racik Edisi Revisi*. Depok: PT Trubus Swadaya
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Wicaksono, A. 2012. *Kalahkan Kanker dengan Sirsak*. Jakarta: Citra Media Mandiri