



INTISARI SAINS MEDIS

Published by Intisari Sains Medis

Efek antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) muda dan tua terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027



CrossMark

Gede Agung Dhimasena Widyandana^{1*}, Agung Nova Mahendra², I Made Jawi²

ABSTRACT

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is an organism that is difficult to handle because it has the ability to resist various antibiotics. Two mechanisms have been studied regarding how *Pseudomonas aeruginosa* is resistant to both intrinsic and adaptive action of antibiotics. This study aims to determine the antibacterial effect of young and old soursop (*Annona muricata* L.) leaves ethanol extract against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Methods: This study uses the True Experimental Control Group Design method. Samples were divided into 3 groups, namely the control group (K), the intervention group young soursop leaves (EDM) and old soursop leaves (EDT). The control group was divided into negative and positive controls and the intervention group was divided into three groups based on the dosage of using the ethanol extract of *Annona muricata*

L leaves in each isolate with a concentration of 25 mg/mL, 50 mg/mL, and 100 mg/mL, respectively, in group of young and old soursop leaves. Data were analyzed using SPSS version 20 for Windows.

Results: The results of the Kruskal-Wallis test showed that there was a significant difference in the inhibition zone in the treatment group, namely the concentration of young and old soursop leaves ethanol extract (25%, 50%, 100%) against the inhibition zone of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria ($P < 0.05$).

Conclusion: The ethanol extract of young soursop (*Annona muricata* L.) leaves did not have the effect of inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in vitro. Besides that, the ethanol extract of old soursop (*Annona muricata* L.) leaves did not have the effect of inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in vitro.

Keywords: Antibacterial, Ethanol Extract of Soursop Leaves, *Pseudomonas aeruginosa*.

Cite This Article: Widyandana, G.A.D., Mahendra, A.N., Jawi, I.M. 2021. Efek antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) muda dan tua terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. *Intisari Sains Medis* 12(1): 212-218. DOI: 10.15562/ism.v12i1.915

ABSTRAK

Latar Belakang: *Pseudomonas aeruginosa* merupakan organisme yang sulit untuk ditangani karena memiliki kemampuan resistensi terhadap berbagai antibiotik. Terdapat dua mekanisme yang telah dipelajari mengenai bagaimana *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap kerja antibiotik baik intrinsik maupun adaptif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) muda dan tua terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Metode: Penelitian ini menggunakan metode *True Experimental Control Group Design*. Sampel dibagi dalam 3 kelompok yakni kelompok kontrol (K), kelompok intervensi daun sirsak muda (EDM) dan daun sirsak tua (EDT). Kelompok kontrol dibagi atas kontrol negatif dan positif serta kelompok intervensi dibagi

atas tiga kelompok berdasarkan dosis penggunaan ekstrak etanol daun *Annona muricata* L. pada masing-masing isolat, dengan konsentrasi 25 mg/mL, 50 mg/mL, dan 100 mg/mL pada masing-masing kelompok daun sirsak muda dan tua. Data dianalisis dengan SPSS versi 20 untuk Windows.

Hasil: Hasil uji *Kruskal-Wallis* yang dapat dilihat menunjukkan terdapat perbedaan bermakna zona hambat pada kelompok perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak muda dan tua (25%, 50%, 100%) terhadap zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ($P < 0,05$).

Kesimpulan: Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) muda tidak memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Disamping itu, ekstrak etanol daun

¹Mahasiswa Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia

²Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia

*Korespondensi:

Gede Agung Dhimasena Widyandana;
Mahasiswa Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia;
quartalvoicings@gmail.com

Diterima: 28-12-2020

Disetujui: 29-03-2021

Diterbitkan: 22-04-2021

sirsak (*Annona muricata* L.) tua tidak memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.

Kata kunci: Antibakteri, Ekstrak Etanol Daun Sirsak, *Pseudomonas aeruginosa*.

Sitasi Artikel ini: Widyananda, G.A.D., Mahendra, A.N., Jawi, I.M. 2021. Efek antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) muda dan tua terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. *Intisari Sains Medis* 12(1): 212-218. DOI: 10.15562/ism.v12i1.915

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan yang serius dimana masih menyebabkan tingginya morbiditas dan mortalitas di negara berkembang termasuk Indonesia.¹ Di Indonesia, masalah kesehatan khususnya infeksi akibat bakteri merupakan masalah kesehatan utama di lingkungan masyarakat akibat sanitasi dan sistem imun yang rendah menyebabkan tingginya angka penyakit infeksi akibat bakteri di Indonesia.¹ Infeksi yang didapatkan di rumah sakit (infeksi nosokomial) juga masih sering terjadi, dimana biasanya terjadi pada pasien yang berisiko tinggi seperti pasien dengan umur tua, berbaring lama, penggunaan obat-obatan immunosupresan dan steroid, daya tahan tubuh yang menurun pada luka bakar, pada pasien yang dilakukan prosedur diagnostik invasif, penggunaan infus dalam jangka lama, dan pasien setelah operasi.¹

Data dari *World Health Organization* (WHO) menunjukkan bahwa prevalensi kejadian infeksi nosokomial pada pasien sekitar 7% di negara maju dan 10% di negara berkembang setiap tahunnya.² Infeksi nosokomial memiliki angka kejadian cukup tinggi di negara maju, seperti diketahui terjadi sebanyak 20.000 kematian setiap tahun akibat infeksi nosokomial di Amerika Serikat.³ Penelitian di Indonesia menunjukkan sejumlah 9,8 % pasien rawat inap di 11 rumah sakit di DKI Jakarta pada tahun 2004 mendapat infeksi yang baru selama perawatan.⁴

Pseudomonas aeruginosa merupakan organisme yang sulit untuk ditangani karena memiliki kemampuan resistensi terhadap berbagai antibiotik.⁵ Terdapat dua mekanisme yang telah dipelajari mengenai bagaimana *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap kerja antibiotik

(intrinsik dan adaptif).⁵ Membran terluar dari *P. aeruginosa* menghambat penetrasi antibiotik dan pengeluaran yang efisien dari molekul antibiotik melalui pompa *efflux* sebelum bekerja pada targetnya.⁵ *P. aeruginosa* memiliki kemampuan genetik untuk menginaktivasi dan memodifikasi antibiotik.⁶ Hal ini menyebabkan tingginya peluang bakteri *P. aeruginosa* mengalami resistensi antibiotik. Pilihan terapi menjadi semakin terbatas akibat penyebaran yang semakin meluas dari *strain* yang resisten dengan beberapa antimikroba, sehingga infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dapat menimbulkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi.⁷ Kondisi ini mendorong dilakukannya penelitian antibakterial baru untuk menangani bakteri ini.

Indonesia merupakan suatu negara yang memiliki tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi dengan tanaman berkhasiat, salah satunya adalah daun sirsak. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) telah lama dimanfaatkan secara luas di berbagai negara untuk pengobatan tradisional pada berbagai penyakit seperti sistisis, diabetes, nyeri kepala, flu, asma dan insomnia.⁸ Ekstrak daun sirsak mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, steroid dan alkaloids yang bekerja sinergis untuk memberikan efek antibakterial.⁸ Senyawa-senyawa ini bekerja dengan menghambat sintesis RNA bakteri serta menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam stabilitas membran sitoplasma dan sintesis DNA.⁹ Kondisi ini mengganggu stabilitas bakteri dan menyebabkan lisis sitoplasma serta kematian sel.^{9,10}

Penelitian yang dilakukan oleh Tuna MR et al., mengenai uji ekstrak pucuk daun sirsak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.¹¹ Faktor lingkungan dapat mempengaruhi senyawa

metabolit sekunder yang dihasilkan oleh daun. Penelitian lainnya oleh Hambali RM et al., menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sirsak tua memiliki efek antibakterial terhadap *S.aureus* dan *Propionibacterium acnes*.¹² Senyawa tannin yang diketahui berperan sebagai antibakteri banyak dijumpai pada daun yang masih muda. Berbeda dengan daun yang sudah tua dimana banyak dijumpai kandungan senyawa acetogenin yang bersifat sitotoksik.¹²

Terdapat beberapa penelitian sebelumnya yang menguji efektivitas ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, namun hasilnya masih beragam berdasarkan pelarut dan konsentrasinya. Berdasarkan pemaparan di atas, penelitian ini bertujuan untuk menguji efek antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) muda dan tua terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode *True Experimental Control Group Design* untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) muda dan tua dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Sampel dibagi dalam 3 kelompok yakni kelompok kontrol (K), kelompok intervensi daun sirsak muda (EDM) dan daun sirsak tua (EDT). Kelompok kontrol dibagi atas kontrol negatif dan positif serta kelompok intervensi dibagi atas tiga kelompok berdasarkan dosis penggunaan ekstrak etanol daun *Annona muricata* L. pada masing-masing isolat, dengan konsentrasi 25 mg/mL, 50 mg/mL, dan 100 mg/mL pada masing-masing kelompok daun sirsak muda dan tua.

Pembuatan ekstrak etanol daun sirsak dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, sedangkan persiapan, perlakuan dan pencarian bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Penelitian ditargetkan selesai dalam waktu satu bulan, yaitu dari bulan November 2020 sampai dengan Desember 2020.

Ekstrak etanol daun sirsak adalah ekstrak yang dibuat dari daun sirsak muda dan tua dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak terbagi menjadi 3 konsentrasi, 25 mg/ml, 50 mg/ml, dan 100 mg/ml. Adapun variabel yang dinilai pada penelitian ini adalah aktivitas zona hambat. Zona hambat ekstrak etanol daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diukur dengan menggunakan jangka sorong pada daerah yang jernih dari lempeng agar. Interpretasi zona hambat dilakukan dengan mengikuti petunjuk tabel yang dibuat oleh CLSI (*Clinical and Laboratory Standart Institute*) yaitu S (sensitif), I (intermediate) dan R (resisten).

Media kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan Agar *Mueller-Hinton* (MH) yakni media untuk uji daya hambat pada cawan petri dengan komposisi *beef infusion* (300 gram/liter), kasein hidrolisat (17,5 gram/liter), karbohidrat (1,5 gram/liter), agar (17 gram/liter) pada pH 7,2 - 7,4. Inkubasi dilakukan selama 24 jam dengan suhu penguapan ekstrak dengan *rotary evaporator* yang ditetapkan sebesar 50°C dan pengeringan daun muda dan tua pada oven dengan suhu 40°C.

Pengujian dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer* dengan menggunakan kertas cakram. Media MH yang telah disterilkan dituang ke setiap cawan petri sebanyak 15-20 ml dan dibiarkan beberapa saat hingga memadat. Pada media padat disebarkan suspensi bakteri sebanyak 0,1 ml yang telah disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland (McF) dengan menggunakan batang penyebar steril hingga suspensi bakteri merata di seluruh permukaan media. Media MH pertama dibagi menjadi empat bagian yang masing-masing akan diletakkan cakram yang berisi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) muda atau tua dengan konsentrasi (P1: 25

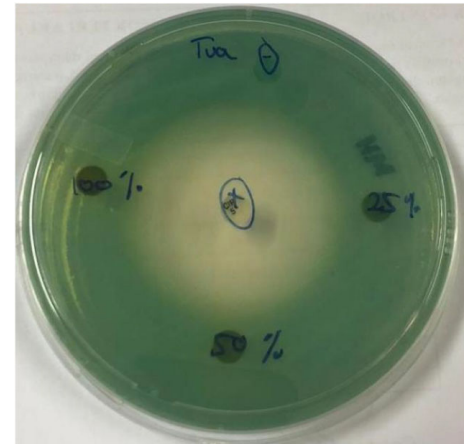
mg/mL, P2: 50 mg/mL, P3: 100 mg/mL). Ekstrak kemudian diambil menggunakan *micropipette* sebesar 20 mikron untuk diteteskan masing-masing pada setiap *paper disc* dan didiamkan minimal 1 jam, agar *paper disc* dalam kondisi kering. Setelahnya, *paper disc* ditaruh didalam cawan petri yang sudah berisikan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pada daerah yang berbeda, diberikan keterangan untuk memudahkan pencatatan. Cakram yang berisi kontrol positif (ciprofloxacin) dan kontrol negatif (pelarut) diletakkan pada media lainnya dan diberi keterangan. Langkah selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati pertumbuhan bakteri dengan zona hambat pada setiap daerah. Apabila zona hambat belum terbentuk atau belum tampak media diinkubasi dan diamati kembali. Daerah hambat yang tampak diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).

Analisis data dilakukan dengan Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) tua dan muda terhadap rata-rata pertumbuhan koloni *P. aeruginosa* (*confident interval* (CI) 99%) menggunakan SPSS versi 20 untuk Windows. Dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc test* untuk mengetahui beda nyata terkecil (BNT) dimana nilai $p < 0,05$ dikatakan bermakna.

HASIL

Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak muda dan tua terhadap bakteri *P. aeruginosa* didapatkan berdasarkan luas zona bening pada cawan petri yang telah diinkubasi didalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 mm pada zona bening di sekitar cawan petri (*Gambar 1*).

Penelitian ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan pada masing-masing ekstrak daun muda dan daun tua dalam 6 buah cawan petri. Cawan petri tersebut telah terdapat inokulasi bakteri *P. aeruginosa* sesuai 10^8 CFU/ml dengan dibuat kekeruhan yang setara dengan 0,5 MacFarland. Terdapat 5 disk pada masing-masing cawan petri yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P).



Gambar 1. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak terhadap bakteri *P. aeruginosa* secara *in vitro*

Kelompok kontrol merupakan kontrol negatif dengan pelarut etanol (K1) dan kontrol positif dengan antibiotik ciprofloxacin (K2) sedangkan kelompok perlakuan dibagi atas enam kelompok berdasarkan dosis penggunaan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada masing-masing isolat *Pseudomonas aeruginosa*, yakni daun tua dengan konsentrasi 25 mg/ml (P1), 50 mg/ml (P2), dan 100 mg/ml (P3) serta daun muda dengan konsentrasi 25 mg/ml (P4), 50 mg/ml (P5), dan 100 mg/ml (P6) (*Tabel 1*). Berdasarkan pengukuran zona bening yang dihasilkan setelah inkubasi pada 6 disk di setiap cawan petri, didapatkan hasil pada *Tabel 1*.

Rata-rata kelompok perlakuan yaitu P1= 0,00 mm, P2= 0,00 mm, P3= 0,00 mm, P4= 0,00 mm, P5= 0,00 mm dan P6= 0,00 mm pada kelompok kontrol yaitu K1= 0,00 mm, K2= 34,00 mm. Kekuatan daya hambat bakteri diketahui melalui rata-rata diameter zona hambat, yakni kelompok K1, P1-P6 (0,00 mm) tidak memiliki kekuatan daya hambat bakteri, sedangkan kelompok K2 (34,00 mm) memiliki kekuatan antibakteri yang sangat kuat (zona bening >20 mm) (*Tabel 1*).

Analisis efek perlakuan diuji berdasarkan rerata diameter zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* antar kelompok sesudah diberikan perlakuan. Hasil analisis

Tabel 1. Data hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Kelompok Perlakuan	Pengulangan		
	1 (mm)	2 (mm)	3 (mm)
Daun Muda			
K1 (Negatif)	0	0	0
K2 (Positif)	35	34	33
P1	0	0	0
P2	0	0	0
P3	0	0	0
Daun Tua			
K1 (Negatif)	0	0	0
K2 (Positif)	35	34	33
P1	0	0	0
P2	0	0	0
P3	0	0	0

Tabel 2. Uji Kruskal-Wallis zona hambat

Variabel	Kelompok	Jumlah (N=18)	Mean Rank	p
Zona Hambat	Daun Muda 25%	3	9,50	1,000
	Daun Muda 50%	3	9,50	
	Daun Muda 100%	3	9,50	
	Daun Tua 25%	3	9,50	
	Daun Tua 50%	3	9,50	
	Daun Tua 100%	3	9,50	

Tabel 3. Uji Mann-Whitney zona hambat

Variabel	Kelompok	Jumlah (N=18)	Mean Rank	p
Kontrol Negatif	Daun Muda 25%	3	3,50	1,000
	Daun Muda 50%	3	3,50	
	Daun Muda 100%	3	3,50	
	Daun Tua 25%	3	3,50	
	Daun Tua 50%	3	3,50	
	Daun Tua 100%	3	3,50	
Kontrol Positif	Daun Muda 25%	3	2,00	0,000
	Daun Muda 50%	3	2,00	
	Daun Muda 100%	3	2,00	
	Daun Tua 25%	3	2,00	
	Daun Tua 50%	3	2,00	
	Daun Tua 100%	3	2,00	

kemaknaan yang digunakan adalah uji non parametrik *Kruskal-Wallis*, sebab rerata diameter zona hambat kelompok kontrol dan perlakuan terdistribusi normal dan tidak homogen.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* yang dapat dilihat pada **Tabel 2**, menunjukkan peringkat rata-rata masing-masing perbandingan zona hambat pada kelompok perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak muda dan tua (25%, 50%, 100%) terhadap zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (**Tabel**

2). Berdasarkan uji analisis yang telah dilakukan diketahui bahwa data yang diperoleh tidak memiliki beda peringkat rata-rata zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang signifikan diantara setiap perlakuan konsentrasi uji sebab *Asymp. sig.* menunjukkan $P = 1,000$ (**Tabel 2**).

Perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dapat dilakukan dengan uji *Mann-whitney* (**Tabel 3**). Pada uji ini dilakukan perbandingan

antara kelompok kontrol negatif dengan masing-masing kelompok perlakuan, dimana hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok K1 (kontrol negatif) dengan kelompok konsentrasi ($p > 0,05$) (**Tabel 3**). Akan tetapi, hasil perbandingan antara kelompok kontrol positif (K2) dengan masing-masing kelompok perlakuan (P) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna terhadap kelompok konsentrasi ($p < 0,05$) (**Tabel 3**).

PEMBAHASAN

Sirsak merupakan salah satu tanaman yang sering dijumpai di Indonesia. Daun tanaman ini telah dimanfaatkan secara luas untuk pengobatan tradisional pada berbagai penyakit seperti sistisis, diabetes, nyeri kepala, flu, asma dan insomnia.¹⁰ Ekstrak daun sirsak mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, steroid dan alkaloids yang bekerja sinergis menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif berdasarkan berbagai penelitian.^{9,10} Dengan kandungan aktifnya, ekstrak daun sirsak juga berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, yakni bakteri Gram negatif yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial berat terutama pada pasien dengan komorbiditas.¹³ Hal ini penting mengingat *P. aeruginosa* memiliki kemampuan untuk mengembangkan resistensi terhadap berbagai antibiotik dan meluasnya *strain* resisten menimbulkan urgensi untuk menemukan antibakteri baru terhadap bakteri ini.

Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam penelitian ini. Kelompok kontrol negatif yang menggunakan etanol 70%, yang merupakan pelarut ekstrak juga tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan antibiotik ciprofloksasin menunjukkan daya hambat yang kuat. Hasil ini mengindikasikan tidak adanya efek antibakteri dari ekstrak etanol daun sirsak terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor meliputi konsentrasi ekstrak, kadar senyawa metabolit sekunder, serta karakteristik dan sifat virulensi bakteri

yang dihambat.

Penelitian ini menggunakan tiga konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak, yaitu 25 mg/ml, 50 mg/ml dan 100 mg/ml, dimana ketiganya tidak menunjukkan efek antibakteria. Konsentrasi tersebut dirasa kurang cukup untuk memberikan efek inhibisi pertumbuhan bakteri. Penelitian oleh Abdulsalami MS et al., menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak tidak menunjukkan efek inhibisi pada konsentrasi 50 mg/ml, namun baru menunjukkan efek inhibisi pada konsentrasi 100 mg/ml.¹⁴ Hasil yang berbeda didapatkan dari penelitian oleh Silitongga D yang menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak terhadap beberapa bakteri, salah satunya *Pseudomonas aeruginosa*.¹⁵ Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki efek antibakteria terhadap *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 25 mg/ml dan 50 mg/ml.¹⁵

Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dipengaruhi oleh bahan yang diekstrak. Kelarutan suatu senyawa dalam pelarut bergantung pada gugus-gugus yang terikat pada pelarut tersebut. Pelarut yang mempunyai gugus hidroksil (alkohol) dan karbonil (keton) termasuk dalam pelarut polar, sedangkan hidrokarbon termasuk ke dalam pelarut non polar. Pemilihan pelarut harus didasarkan pada sifat polaritas dan stabilitas.¹⁶ Penelitian untuk menguji kandungan fitokimia pada daun sirsak menggunakan tiga pelarut berbeda (kloroform, etil asetat, dan etanol) menunjukkan bahwa persentase ekstrak yang dihasilkan paling banyak pada ekstrak etanol. Hal ini menandakan senyawa bioaktif yang terdapat pada daun sirsak lebih larut dalam etanol dibanding dua senyawa lainnya. Alkohol merupakan pelarut terbaik untuk ekstraksi komponen aktif dari tumbuhan.¹⁷

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah sebuah proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Metode ini memiliki kelebihan karena alatnya sederhana, mudah dilakukan dan menghindari kerusakan komponen kimia akibat proses pemanasan.¹⁶ Penelitian oleh Abdulsalami MS et al., menggunakan metode yang

sama untuk maserasi dengan *aqueous* dan etanol menghasilkan persentase hasil ekstrak sebesar 14,95% (*aqueous*) dan 17,63% (etanol).¹⁴ Hal ini menunjukkan bahwa pelarut etanol menghasilkan ekstrak yang lebih banyak dibandingkan *aqueous* karena kemampuan etanol untuk melarutkan lebih banyak komponen aktif dalam daun sirsak.¹⁴

Kemampuan etanol untuk melarutkan lebih banyak zat aktif tidak secara langsung menghasilkan efek antibakteri yang lebih baik dibanding bagian tumbuhan lainnya. Penelitian menggunakan berbagai pelarut dan bagian tanaman sirsak menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak tidak memiliki efek antibakterial terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Efek inhibisi terkuat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ditunjukkan oleh ekstrak *aqueous* daun sirsak dan ekstrak etanol kulit buah sirsak.¹⁸ Penelitian lain menunjukkan tidak adanya perbedaan aktivitas antibakterial yang diamati antara ekstrak *aqueous* dan etanol dari daun sirsak (*Annona muricata L.*), meskipun terlihat aktivitas antibakterial yang lebih tinggi pada ekstrak etanol dibandingkan *aqueous*. Ketika dibandingkan dengan antibiotik standar (ciprofloksasin), kedua jenis ekstrak ini memberikan perbedaan bermakna dalam aktivitas antimikroba pada bakteri *P. aeruginosa*, *E. coli*, dan *S. mutans*.¹⁴

Dalam penelitian ini tidak dilakukan uji kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun sirsak sehingga tidak ada data mengenai ada tidaknya kandungan senyawa metabolit sekunder serta kadar masing-masing senyawa yang terkandung dalam daun sirsak. Perbedaan kandungan senyawa metabolit dapat terjadi akibat perbedaan lingkungan tempat tumbuh tanaman, jenis varietas, kondisi fisiologis (tua dan muda) serta pengolahan pasca panen.¹⁹

Penelitian oleh Wirastuty RY et al., membandingkan pengaruh posisi daun (pucuk, tengah dan pangkal) tanaman sirsak terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*.²⁰ Hasil penelitian tersebut menunjukkan bagian pucuk daun sirsak memiliki kandungan senyawa bioaktif yang paling banyak. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara posisi daun dengan aktivitas

antibakteria terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, meskipun pada bagian pucuk daun memperlihatkan diameter zona hambat yang lebih besar.²⁰ Penelitian oleh Sari DL melihat menemukan tidak ada perbedaan yang signifikan pada aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak muda dan tua terhadap daya hambat bakteri *S. aureus*, meskipun efektivitasnya ditemukan lebih tinggi pada daun muda.²¹ Dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya aktivitas antibakteri pada daun sirsak muda dan tua.

Senyawa alkaloid menunjukkan aktivitas antibakteri dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel bakteri.²² Penelitian oleh More S et al., menunjukkan bahwa fraksi alkaloid terisolasi tidak memiliki efek terhadap bakteri Gram negatif karena adanya barrier penetrasi pada membran luar bakteri dan ruang periplasma yang berisi enzim yang mampu mendegradasi molekul eksogen.²² Membran luar *Pseudomonas aeruginosa* tersusun atas dua lapis berupa fosfolipid pada sisi dalam dan sisi luar berupa lipopolisakarida (LPS) yang memberikan sifat permeabilitas.²² Sayangnya, *P. aeruginosa* memiliki permeabilitas dinding luar yang sangat rendah, yakni hanya sekitar 8% dari bakteri gram negatif lainnya seperti *Escherichia coli*. Hal ini berperan dalam tingginya kejadian resistensi pada bakteri ini.²³

Flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, lisosom, dan sel bakteri sebagai akibat interaksinya dengan DNA sel bakteri.¹⁷ Efek antibakteri senyawa fenol bergantung pada jumlah gugus hidroksil dan konsentrasi yang diberikan. Flavonoid mampu menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar pada dinding sel bakteri Gram positif dengan lebih baik dibandingkan dengan bakteri Gram negatif yang memiliki membran dengan kandungan lipid tinggi sehingga bersifat nonpolar.^{24,25} Konsentrasi fenol dalam ekstrak daun sirsak di penelitian ini kemungkinan belum mampu untuk merusak dinding sel dan menghambat bakteri *P. aeruginosa*.

Dua senyawa lainnya yang memiliki aktivitas antibakteri adalah saponin dan terpenoid. Saponin adalah senyawa

aktif di permukaan yang dihasilkan dari kelompok steroid atau triterpene yang berikatan dengan gula. Saponin menghambat pertumbuhan mikrioba atau membunuh bakteri melalui interaksi dengan sterol membrane.¹⁷ Saponin mampu merubah stuktur dan fungsi membran sehingga terjadi peningkatan permeabilitas membran sel, denaturasi protein di membran, sehingga terjadi lisis sel bakteri.²⁶ Terpenoid merupakan senyawa yang bersifat lipofilik yang juga berperan dalam merusak membran sel bakteri melalui reaksi dengan sisi aktif membran sel dan meningkatkan permeabilitas dinding sel.²⁷ Aktivitas antibakteri kedua senyawa ini sangat bergantung pada konsentrasi senyawa dalam ekstrak, sehingga kurangnya kadar senyawa yang dihasilkan dalam ekstrak etanol daun sirsak dapat menyebabkan tidak adekuatnya efek antibakteri yang dihasilkan terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Karakteristik dinding sel bakteri sangat berperan penting dalam keberhasilan inhibisi pertumbuhan oleh antibakteri. Bakteri *P. aeruginosa*, sebagai bakteri Gram negatif, diketahui memiliki membran yang cukup kompleks. Bakteri Gram negatif secara umum memiliki dinding sel yang relatif kompleks dan berperan penting sebagai *barierr* molekular yang mencegah hilangnya protein intraselular dan menurunkan akses enzim dan beberapa obat hidrolitik, khususnya antibiotik hidrofobik.²⁸ Membran terluar dari *Pseudomonas aeruginosa* menghambat penetrasi antibiotik dan pengeluaran yang efisien dari molekul antibiotik melalui pompa *efflux* sebelum bekerja pada targetnya. Membran *P. aeruginosa* memiliki kanal terbuka yang sangat jarang dibandingkan bakteri Gram negatif lainnya ditambah adanya pompa *effluks* yang dapat melawan influks agen antibakteria yang berhasil masuk melewati membran sel.^{6,29}

Permeabilitas membran sel terluar bakteri Gram negatif juga dipengaruhi oleh porin. Porin memungkinkan terjadinya difusi pasif komponen hidrofilik dengan berat molekul rendah, namun tidak permeabel terhadap molekul berukuran besar.³⁰ *Pseudomonas aeruginosa* tidak memiliki porin trimetrik non spesifik dan memiliki banyak porin spesifik-substrat

monometrik.³⁰ Rendahnya permeabilitas ini dapat terjadi karena tidak adanya porin difusi umum yang berukuran besar, seperti OmpF dan OmpC.²³ Banyaknya jumlah porin yang berukuran kecil ini mempengaruhi penetrasi antibakteri, terutama yang berukuran relatif besar pada kebanyakan kandungan aktif tanaman.³⁰

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) muda tidak memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) tua tidak memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penulisan laporan penelitian ini.

ETIKA PENELITIAN

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia sebelum penelitian berjalan.

PENDANAAN

Tidak ada.

KONTRIBUSI PENULIS

Seluruh penulis memiliki kontribusi yang sama dalam penulisan laporan penelitian ini baik dari penyusunan kerangka konsep, pengambilan data, analisis data, interpretasi hasil penelitian, hingga penulisan laporan penelitian dalam bentuk publikasi ilmiah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Khan HA, Baig FK, Mehboob R. Nosocomial infections: epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2017;7(5):478-482.
2. World Health Organization. Guidelines on Core Components of Infection Prevention and Control Programmes at the National and Acute Health Care Facility Level. Geneva: World Health Organization; 2016.
3. Ak O, Batirel A, Ozer S, Çolakoğlu S. Nosocomial infections and risk factors in the intensive care unit of a teaching and research hospital: a prospective cohort study. *Med Sci Monit*. 2011;17(5):PH29-PH34.

4. Noer SF. Pola Bakteri Dan Resistensinya Terhadap Antibiotik yang Ditemukan pada Air Dan Udara Ruang Instalasi Rawat Khusus RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2012;16(2):73-78.
5. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*. 2019;37(1):177-192.
6. Alhazmi A. NOD-like receptor(s) and host immune responses with *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Inflamm Res*. 2018;67(6):479-493.
7. Gellatly SL, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathog Dis*. 2013;67(3):159-173.
8. Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Ali HM, Kadir HA. *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *Int J Mol Sci*. 2015;16(7):15625-15658.
9. Fikri F, Rahmaningtyas IH, Prastiya RA, Purnama MTE. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*. *Jurnal Veteriner*. 2019;20(3):384-389.
10. Coria-Téllez AV, Montalvo-González E, Yahia EM, Obledo-Vázquez EN. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian J Chem*. 2018;11(5):662-691.
11. Tuna MR, Kepel BJ, Leman MA. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. *PHARMACON: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2015;4(4):65-70.
12. Hambali RM, Husain DR, Alam G. Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Tua Sirsak *Annona muricata* L. Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Makassar: Universitas Hassanuddin. 2014
13. Shehabi AA, Kamal AM. *Pseudomonas aeruginosa*, a common opportunistic pathogen in Jordan: a short review article. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents*. 2019;9(1):1-8
14. Abdulsalami MS, Aina VO, Ibrahim MB, Adejo GO, Audu G. Comparative Antibacterial Study of Aqueous and Ethanolic Leaf Extracts of *Annona muricata*. *Journal of Natural Sciences Research*. 2016;6(3):141-145.
15. Silitongga D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* [Skripsi] Medan: Universitas Sumatera Utara. 2019.
16. Ariyani H, Nazemi M, Hamidah, Kurniati M. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Cytrus hystrix* DC) Terhadap Beberapa Bakteri. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*. 2018;2(1):136-141.

17. Rarassari MA, Maftuch HN. Phytochemicals and Antibacterial Activities of Sour sop Leaf (*Annona muricata*) against *Edwardsiella tarda* (in vitro). *J Life Sci Biomed*. 2016;6(1):6-9.
18. Iyanda-Joel WO, Omonigbehin EA, Iweala EEJ, Chinedu SN. Antibacterial studies on fruit-skin and leaf extracts of *Annona muricata* in Ota, Nigeria. *Earth and Environmental Science*. 2019;331:012029.
19. Apriyuslim RP. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap *Salmonella typhi* Secara in vitro [Skripsi]. Pontianak: Universitas Tanjungpura. 2015.
20. Wirastuty RY, Sartini, Lallo S, Allam G, Rante H, Yulianty R. Pengaruh Posisi Daun pada Tanaman Sirsak (*Annona muricata* Linn.) dan Aktivitas Antibakteri secara in vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2018;22(3):85-89.
21. Sari DL. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak Muda dan Tua (*Annona muricata* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara. 2018.
22. More S, Maldar NN, Bhamra P, Sharon M, Sharon M. Antimicrobial Activity of Naphthyl Iso-Quinoline Alkaloids of *Ancistrocladus heyneanus*: I Extracted from Leaves. *Pelagia Research Library*. 2012;3(5):2760-2765.
23. Chevalier S, Bouffartignes E, Bodilis J, Maillot O, Lesouhaitier O, Feuilloley MGJ, et al. Structure, function and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* porins. *FEMS Microbiol Rev*. 2017;41(5):698-722.
24. Puspitasari GS, Murwani, Herawati. Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) M.2306.T In Vitro. *Jurnal Veterinari Medika*. 2012;2(4):1-8. 32.
25. Dewi FK. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar [Skripsi]. Surakarta. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. 2010
26. Juliantina F, Citra DW, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo ET. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2009;1(1):1-10.
27. Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2013;6(12):1451-1474.
28. Pinto CC, Campos LM, Evangelista ACS, Lemos ASO, Silva TP, Melo RCN, et al. Antimicrobial *Annona muricata* L. (sour sop) extract targets the cell membrane of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Industrial Crops and Products*. 2017;107:332-34.
29. Jenny M, Kingsbury J. Properties and Prevention: A Review of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Med Res*. 2018;2(3):1-8
30. Samanta S, Bodrenko I, Acosta-Gutiérrez S, D'Agostino T, Pathania M, Ghai I, et al. Getting Drugs through Small Pores: Exploiting the Porins Pathway in *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS Infect Dis*. 2018;4(10):1519-1528.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution