

**AKTIVITAS EKSTRAK KLOOROFORM DAUN SIRSAK (*ANNONA MURICATA* LINN)
SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *PROPIONIBACTERIUM ACNES***

**(*THE CHLOROFORM EXTRACT OF SOURSOP (ANNONA MURICATA LINN)
LEAVES AS ANTIBIOTIC TOWARDS PROPIONIBACTERIUM ACNES*)**

Dian Riana Ningsih, Zufahair, dan Dwi Kartika

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jenderal Soedirman
Jl. H. R. Boenyamin 708, Grendeng, Purwokerto Utara, Kabupaten Banyumas 53122
e-mail: deeyan_bik@yahoo.com

Abstrak

Propionibacterium acnes (*P. acnes*) merupakan bakteri yang sering ditemukan pada jerawat. *P. acnes* bersifat mikroaerofilik yang bisa dianggap tidak hanya sebagai flora normal penghuni pada kulit normal tetapi juga bersifat sebagai bakteri patogen fakultatif. Daun sirsak merupakan salah satu tanaman yang bermanfaat untuk mengatasi jerawat, luka borok, bisul, kejang, dan kutu rambut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kloroform daun sirsak terhadap bakteri *P. acnes*. Metode aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran. Aktivitas penghambatan ekstrak kloroform daun sirsak ditandai dengan adanya zona bening. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dengan konsentrasi 1000, 2000, 3000, dan 4000 ppm dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* dengan zona hambat berturut-turut sebesar 8,86; 12,12; 12,42; 15,48 mm. Zona hambat yang terbentuk semakin besar dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak kloroform daun sirsak yang diujikan terhadap *P. acnes*.

Kata kunci: *daun sirsak, ekstrak kloroform, antibakteri, zona hambat, P. acnes*

Abstract

Propionibacterium acnes (*P. acnes*) was bacterium commonly found in acne. *P. acne* was microaerophilic bacterium which can be as a normal flora as inhabitants of skin but also is a facultative pathogen. Soursop was a plant that can be used for acne, wounds ulcers, convulsions, and lice cure. This study was aimed to determine the antibacterial activity of soursop leaves against *P. acnes* bacteria using chloroform solvent. Antibacterial activity test was performed by well diffusion method. The inhibition activity of soursop leaves chloroform extracts was indicated by the appearance of clear zone. The results show that the extract of chloroform at a concentration of 1000, 2000, 3000, and 4000 ppm is able to inhibit the growth of *P. acnes* bacteria with the inhibition zone of 8.86, 12.12, 12.42, and 15.48 mm respectively. The greater the inhibition zone, the higher the concentrations of n-hexane extract of the soursop leaves.

Keywords: *soursop leaves, extract chloroform, antibacterial, inhibitory zone, P. acnes*

PENDAHULUAN

Perkembangan pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional dengan penggunaan yang lebih baik sekarang lebih diminati. Hal ini disebabkan karena obat tradisional relatif mudah didapat. Bahan obat dari alam tumbuh melimpah di Indonesia sehingga penggunaan obat tradisional menjadi semakin meningkat dan berkembang luas di masyarakat.

Annona muricata L. merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah tropis Amerika namun telah banyak di Pulau Jawa sebagai tumbuhan penghasil buah. Tanaman sirsak merupakan tumbuhan tegak *evergreen* yang tingginya dapat mencapai 5-6 meter. Daunnya berbentuk *elips* memanjang dengan bagian ujung yang runcing. Daun ini memiliki panjang 6-20 sm dan lebar 2-6 cm (Adewole & Caxton-martins, 2006). Semua bagian tanaman sirsak dapat digunakan sebagai obat-obatan alami termasuk kulit kayu, daun, akar, buah, dan biji. Secara umum buahnya dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit cacangan dan parasit, menurunkan demam, meningkatkan jumlah air susu ibu (ASI) setelah melahirkan serta sebagai astrigen untuk diare dan disentri. Biji yang telah dihancurkan bermanfaat sebagai antiparasit eksternal dan internal seperti kutu kepala dan cacangan. Di Indonesia, pohon sirsak dapat tumbuh tanpa perawatan khusus di kebun atau halaman rumah. Pada zaman dahulu, tanaman sirsak hanya dikenal

di masyarakat untuk pengobatan luar, khususnya penyakit kulit. Secara empiris buah atau daun *Annona muricata* manjur mengatasi beragam penyakit. Akan tetapi, sejak tahun 2010 buah sirsak diketahui dapat berkhasiat untuk mengobati disentri, empedu akut, dan kencing batu. Air perasan daun sirsak dengan konsentrasi mulai 25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Daunnya juga berfaedah untuk mengatasi luka borok, bisul, kejang, jerawat, dan kutu rambut.

Ekstrak kloroform daun sirsak menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 1 ppm dengan zona hambat sebesar 3,23 mm. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak kloroform daun sirsak menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid, steroid, saponin dan tanin. Hasil identifikasi spektrofotometer IR menunjukkan bahwa ekstrak kloroform daun sirsak memiliki gugus fungsi OH, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, CH₃, C-O eter dan C-H di luar bidang (Ningsih, Zufahair, & Kartika, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh (Pathak, Saraswathy, & Savai, 2010), ekstrak metanol daun sirsak mengandung metabolit sekunder seperti tanin dan steroid. Menurut penelitian terdahulu, ekstrak etanol daun *A. muricata* Linn mengandung senyawa flavanoid yang dapat berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik (Takahashi, 2006).

Daun sirsak mampu mengatasi jerawat. Bakteri yang sering ditemukan pada jerawat adalah bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. *S. aureus* biasanya terdapat pada saluran pernafasan atas, kulit, saluran kencing, mulut dan hidung, jaringan kulit bagian dalam dari bisul bernanah, infeksi luka, radang paru-paru, dan selaput lendir lainnya. *P. acnes* yang bersifat mikroaerofilik sebagai flora normal penghuni pada kulit yang normal, juga bersifat sebagai bakteri patogen fakultatif. Bakteri ini juga diisolasi dari lesi atau luka *acne vulgaris* (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2001). Bakteri ini disebut piogenik (Madigan, Martinko, Dunlap, & Clark, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari daun sirsak *Annona muricata L.* terhadap *P. acnes* penyebab jerawat. Penentuan aktivitas antibakteri dari daun sirsak *Annona muricata L.* dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak diambil dari desa langkap Purbalingga, kloroform, isolat bakteri *P. acnes*, Nutrien Agar (NA), *Nutrient Broth (NB)*, *Pepton Yeast Agar (PYG)*, aquades steril, tetrasiklin HCl 500 mg,

alkohol 70%, *wrapping*, kapas, kain kassa, dan aluminium foil. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, blender, autoklaf, timbangan analitik, alat *rotary evaporator Buchii*, inkubator (Memert Jerman), *shaker* inkubator (Memert Jerman), *filler*, pipet ukur, gelas arloji, *object glass*, corong *Buchner* dan pompa vakum, *vial*, *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer*, pipet mikro otomatis, lampu spiritus, jarum ose, *drugalsky*, jangka sorong, dan *crok bor*.

Ekstraksi (Ningsih, Zufahair, & Purwati, 2014)

Daun sirsak dicuci sampai bersih agar kotoran-kotoran seperti debu yang menempel pada daun sirsak tersebut hilang. Selanjutnya sampel daun sirsak dikeringkan tanpa terkena sinar matahari. Sampel daun sirsak yang telah kering kemudian dibuat serbuk dengan cara diblender agar ukuran menjadi lebih kecil sehingga dapat memperluas kontak dan meningkatkan daya interaksinya dengan pelarut. Ekstraksi dilakukan secara maserasi, dengan pelarut n heksan dan kloroform. 100 gram daun sirsak direndam dengan 650 mL n heksan, ditutup lalu disimpan di ruang gelap dan dikocok dengan *shaker* 120 rpm selama 3 x 24 jam. Setelah itu, filtrat diambil dan residu dimaserasi kembali dengan 50 mL n heksan selama 1 x 24 jam. Selanjutnya filtrat diambil dan residu dimaserasi dengan kloroform sebanyak 650 ml selama 3 x

24 jam. Kemudian disaring dan ampas dimaserasi kembali dengan kloroform sebanyak 50 ml selama 1 x 24 jam. Filtrat disaring kembali dan dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotavapor pada suhu ± 40 °C. Ekstrak pekat ini ditimbang untuk mendapatkan nilai rendemennya.

Regenerasi Bakteri Uji (Kusmiyati, 2006)

Bakteri yang akan digunakan untuk uji antibakteri harus diregenerasikan terlebih dahulu sebelum digunakan. Bakteri stok yang merupakan kultur primer, mula-mula dibiakkan ke dalam agar miring (*Nutrient agar*), yaitu sebanyak satu ose bakteri digoreskan ke *median* NA miring lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan ini merupakan aktivitas awal stok bakteri yang kemudian disimpan pada suhu 5°C.

Uji Aktivitas Antibakteri (Ningsih, dkk., 2014)

Uji awal aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara difusi. Sebanyak satu ose bakteri *P. acnes* dari stok biakan diambil lalu diinkubasi di dalam 10 mL media cair (*Nutrient Broth*) selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan sambil dikocok menggunakan penangas air bergoyang dengan kecepatan 100 rpm. Biakan bakteri sebanyak 5 mL diambil lalu diukur OD-nya dengan nilai kurang dari satu pada panjang gelombang

620 nm. Bila nilai OD > 1 diambil biakan sebanyak 50 mL, bila OD < 1 biakan diambil 100 mL. Tuangkan 15 mL media *Pepton Yeast agar* (PYG) bersuhu ± 40 °C ke dalam cawan petri kemudian biakan disebar di atas media tersebut. Setelah itu agar dilubangi dengan diameter ± 8 mm menggunakan *crock bor*. Ke dalam lubang tersebut dimasukkan ekstrak kloroform daun sirsak sebanyak 50 mL dengan konsentrasi 1000, 2000, 3000, dan 4000 ppm, serta masing-masing dilarutkan dalam pelarut air lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terlihat di sekeliling lubang, menandakan adanya aktivitas antibakteri *P. acnes* kemudian zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel daun sirsak diperoleh dari desa Langkap Purbalingga. Sampel dibersihkan sampai bersih, hal ini dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran seperti debu yang menempel pada daun sirsak. Selanjutnya sampel daun sirsak dikeringkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung selama 6 minggu. Pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kadar air dalam sampel yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi enzimatik yang mengakibatkan rusaknya sampel karena susunan senyawa yang terdapat dalam daun tersebut telah berubah.

Sampel daun sirsak yang telah kering patah tersebut kemudian dibuat serbuk dengan cara diblender agar ukuran partikelnya menjadi lebih kecil dan disaring dengan saringan 30 mesh agar ukuran serbuk menjadi sama dan menjadi seragam. Semakin kecil ukuran serbuk semakin memperluas kontak dan meningkatkan daya interaksinya dengan pelarut. Pembuatan sampel menjadi serbuk menyebabkan kerusakan dinding sel yang menyebabkan pelarut lebih mudah menarik senyawa yang terkandung di dalam sel tersebut sehingga jumlah ekstrak yang diperoleh optimal. Serbuk daun sirsak selanjutnya dilakukan ekstraksi secara maserasi.

Proses ekstraksi senyawa kimia yang terkandung dalam daun sirsak, dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut organik. Pelarut organik yang dipakai adalah kloroform. Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dilakukan untuk sampel yang tidak tahan panas dengan cara perendaman di dalam pelarut tertentu selama waktu tertentu. Teknik ini mempunyai beberapa kelebihan antara lain alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendaman tetapi menghasilkan produk yang baik, selain itu dengan teknik ini zat-zat yang tidak tahan panas tidak akan rusak (Depkes, 2000). Proses maserasi sangat menguntungkan untuk isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman ekstrak tumbuhan dapat menyebabkan pemecahan dinding dan

membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna.

Sampel ditimbang sebanyak 100 g kemudian direndam dalam 650 mL pelarut n heksan selama 3 x 24 jam karena proses maserasi akan berlangsung optimal dengan tersedianya waktu kontak yang cukup lama antara pelarut dan sampel. Selama perendaman dilakukan 3 kali pengadukan selama 1 x 24 jam untuk menyempurnakan kontak antara pelarut dan sampel. Larutan kemudian disaring dan diperoleh filtrat. Ampas dari penyaringan kemudian direndam kembali dengan pelarut n heksan sebanyak 50 mL. Hal ini dilakukan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang masih tersisa dalam ampas. Pada perendaman dengan pelarut yang kedua ini dilakukan selama 1 x 24 jam dan dilakukan pengadukan selama 3 kali. Kemudian dilakukan penyaringan dan ampas dimaserasi kembali dengan pelarut kloroform sebanyak 650 ml selama 3 x 24 jam. Setelah 3 x 24 jam dilakukan penyaringan dan ampas dimaserasi kembali dengan 50 ml pelarut kloroform selama 1 x 24 jam. Dilakukan penyaringan dan filtrat dari kedua rendaman kemudian dijadikan satu dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai ekstrak pekat.

Penyiapan Biakan Bakteri *P. acnes*

Pada penelitian ini menggunakan metode difusi agar untuk uji aktivitas antibakteri. Inokulum bakteri *P. acnes* ditumbuhkan dalam medium NB sebanyak 10 mL dan diinkubasi selama 24 jam. Kemudian inokulum NB tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 620 nm dengan nilai absorbansi yang terukur sebesar 1,135 sehingga inokulum yang disebarkan dalam media NA sebanyak 50 mL.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana Daun Sirsak

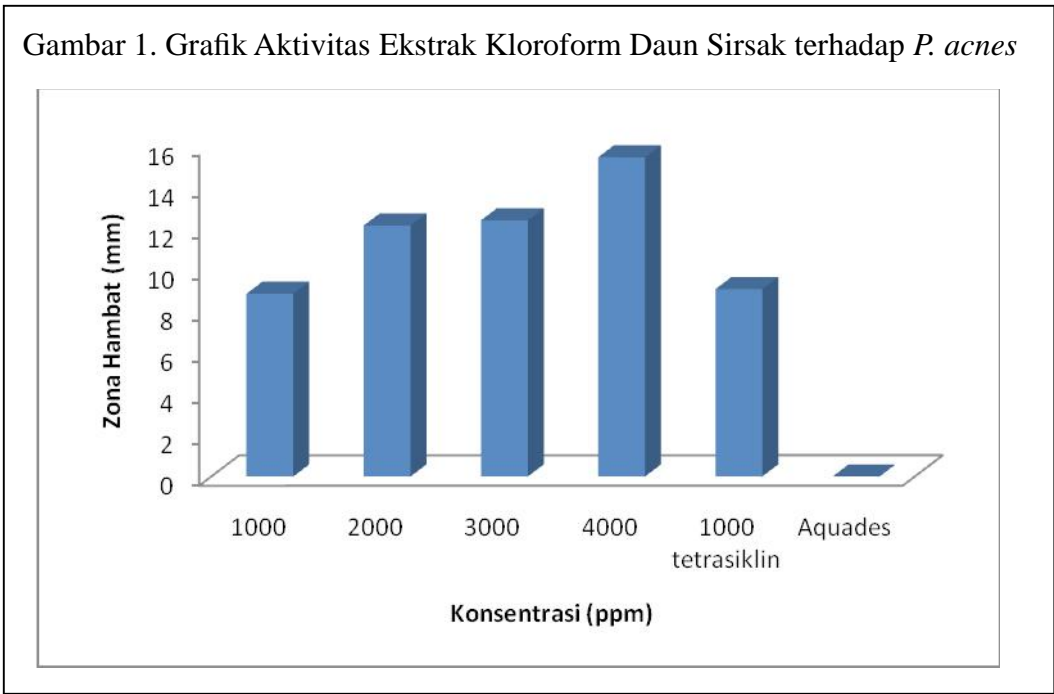
Uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak daun sirsak dilakukan dengan metode difusi. Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah medium PYG. Medium ini mengandung glukosa dalam jumlah banyak yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Sebanyak 50 mL inokulum *P. acnes* dalam medium NB disebar pada medium PYG secara aseptis. Sampel sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam medium PYG yang telah dilubangi dengan *crook bor* dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri dihitung dengan mengukur zona hambat di sekitar lubang sampel yang terlihat jernih.

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak kloroform daun sirsak terhadap

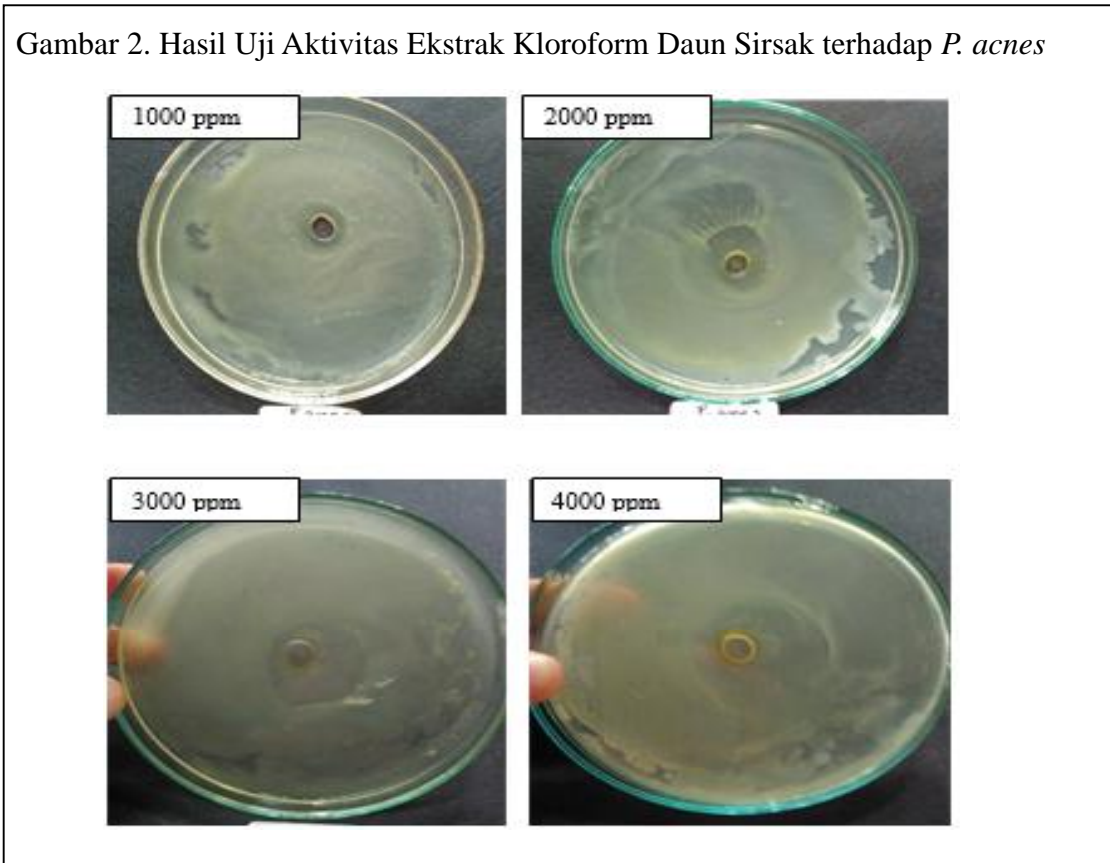
bakteri *P. acnes* yang ditandai dengan adanya zona bening atau zona hambat disekitar lubang. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak kloroform daun sirsak terhadap *P. acnes* dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan hasil penelitian seperti yang terlihat pada Gambar 1 menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk semakin bertambah dengan meningkatnya konsentrasi. Aktivitas antibakteri ekstrak kloroform daun sirsak dengan konsentrasi 1000, 2000, 3000, dan 4000 ppm berturut-turut sebesar 9,17; 12,09; 12,34; dan 21,22 mm (Gambar 2). Ningsih, dkk. (2016) menjelaskan bahwa ekstrak kloroform 1000 ppm daun sirsak mampu menghambat bakteri *E.coli* yaitu dengan zona hambat sebesar 8,34 mm. Zona hambat yang terbentuk ekstrak kloroform terhadap *P. acne* lebih besar dibandingkan dengan zona hambat terhadap *E. coli*. Hal ini disebabkan bakteri yang digunakan berbeda sehingga akan memberikan zona hambat yang berbeda. Pada konsentrasi 4000 ppm memberikan aktivitas antibakteri yang paling besar jika dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Ekstrak kloroform daun sirsak dengan konsentrasi 1000, 2000, 3000, dan 4000 ppm memiliki zona hambat yang lebih besar dari zona hambat tetrasiklin.

Gambar 1. Grafik Aktivitas Ekstrak Kloroform Daun Sirsak terhadap *P. acnes*



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Kloroform Daun Sirsak terhadap *P. acnes*



SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform daun sirsak (*Annona muricata* Linn) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acne*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kloroform daun sirsak menghasilkan diameter zona hambat yang semakin besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adewole, S. O., & Caxton-Martins, E. A. (2006). Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* linn.(annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic β -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research*, 9(3), 173-187.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat* (Cetakan I). Jakarta: Depkes Press.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2001). *Medical microbiology* (Edisi ke-22). USA: McGraw Hill Company.
- Kusmiyati. (2006). Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga porphyridium cruentum. *Biodiversitas*, 8(1), 48-53.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., & Clark, D. P. (2008). Brock biology of microorganisms 12th edn. *Int Microbiol*, 11, 65-73.
- Ningsih, D. R., Zufahair, & Purwati. (2014). Potensi ekstrak daun kamboja putih sebagai antibakteri dan identifikasi senyawa bioaktifnya. *Jurnal Molekul*, 9(2), 101-109.
- Ningsih, D. R., Zufahair, & Kartika, D. (2016). Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri. *Jurnal Molekul*, 11(1), 101-111.
- Pathak, P., Saraswathy, V. A., & Savai, J. (2010). In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of the leaves of *Annona muricata*. *International Journal of Pharma Research and Development*, 2(5), 1-6. Diunduh dari: <https://docslide.net/documents/in-vitro-antimicrobial-activity-and-phytochemical-analysis-of-the-leaves-of-annona-muricata.html>.
- Takahashi, J. A., Pereira C. R., Pimenta, L. P. S., Boaventura, M. A. D., & Silva, L. G. F. E. (2006). Antibacterial activity of eight brazilian annonaceae plants. *Natural Product Research*, 20(1), 21-26.