



INHIBITION TEST OF METHANOL EXTRACT FROM SOURSOP LEAF (*Annona muricata* Linn.) AGAINST *Streptococcus mutans* BACTERIA*

Raudhatul Jannah¹, Muhammad Ali Husni¹, Risa Nursanty^{2*}

¹Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Syiah Kuala

²Jurusan Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala

*E-mail: risa_nursanty@unsyiah.ac.id

Abstract. Dental caries is a disease with a high prevalence of caries in Indonesia is caused by the bacterium *Streptococcus mutans*. The leaves of the soursop (*Annona muricata* Linn.) is one of the herbs that can remove dental plaque. This study aims to determine the chemical content and measure the inhibitory antibacterial screening stated that the leaf of the soursop contains flavonoids, alkaloids, tannins, steroids, glycosides and saponins. Test of inhibition were measured using paper disc diffusion method with variation concentrations of 5, 10, 15, 20, and 25%, positive control is tetracycline 30 µg, and a negative control is methanol. Antibacterial test results showed that the methanol extract of soursop leaves have antibacterial activity against *Streptococcus mutans* at concentrations of 5, 10, 15, 20 and 25% with inhibitory diameter of 9,1; 10,57; 11,53; 12,01 and 13,75 mm respectively.

Keywords: Soursop leaves, Dental caries, *Streptococcus mutans*, Methanol.

I PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia sudah mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat, sebagai salah satu upaya penanggulangan masalah kesehatan. Penggunaan obat herbal cenderung meningkat dengan adanya pemikiran *back to nature* serta krisis berkepanjangan yang dapat mengakibatkan turunnya daya beli masyarakat terhadap obat modern [1]. Tanaman herbal memiliki efek terapi, namun juga memiliki efek samping toksik, sehingga khasiat dan cara penggunaan perlu diketahui oleh masyarakat [2]. Salah satu tanaman herbal yang berkhasiat obat adalah sirsak (*Annona muricata* Linn). Sirsak dapat digunakan untuk pengobatan diantaranya untuk meningkatkan Air Susu Ibu (ASI) dan juga dapat mengobati penyakit kanker [3]. Masyarakat menggunakan air rebusan daun sirsak sebagai obat batuk, menghilangkan plak gigi, dan dapat juga digunakan sebagai obat terapi pada kaki bengkak dan peradangan. Tapal daun sirsak muda dapat digunakan untuk mengurangi rematik dan infeksi kulit lainnya seperti eksim [4]. Skrining fitokimia menyatakan bahwa daun sirsak mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, karbohidrat, glikosida, saponin, tanin, fitosterol, terpenoid dan protein [5]. Golongan senyawa kimia alkaloid, saponin dan tanin merupakan golongan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dan dapat menyebabkan terjadinya lisis sel

bakteri *Supragingiva*. *Supragingiva* disebabkan oleh akumulasi plak gigi karena kebersihan mulut yang buruk, kalkulus, iritasi mekanis, dan posisi gigi yang tidak teratur [6]. Karies pada gigi merupakan masalah kesehatan gigi yang umum terjadi di Indonesia. Berdasarkan hasil survei Kesehatan Rumah Tangga. Departemen Kesehatan RI pada tahun 2004, prevalensi penyakit karies pada gigi mencapai 90,05%. Karies gigi merupakan penyakit gigi terlokalisir yang dapat merusak jaringan keras pada gigi, terbentuk dari akumulasi plak pada permukaan gigi dan aktifitas biomekanis dari kumpulan mikro kompleks. *Streptococcus mutans* merupakan salah satu bakteri patogen penyebab karies yang memiliki peran utama dalam terjadinya fermentasi karbohidrat yang menghasilkan asam, sehingga menyebabkan korosi pada enamel gigi [7].

Penelitian tentang daya antibakteri telah dilakukan oleh Jannata yang menyatakan bahwa ekstrak kulit apel manalagi mempunyai daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 25% [8]. Hasil penelitian Wisdom telah membuktikan bahwa daya antibakteri dari ekstrak metanol daun sirsak efektif menghambat bakteri Gram positif yaitu *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 400 mg/mL dengan diameter zona hambat masing-masing 19,5±0,5 dan 20,5±0,5 mm [9]. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaporkan terhadap daya antibakteri

dari daun sirsak, maka menarik untuk dilakukan penelitian terkait uji daya hambat ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

II METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hayati dan Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. Penelitian ini dilakukan selama tiga bulan, mulai Maret-Mei 2015. Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, oven, inkubator, erlenmeyer, gelas ukur, *rotary vacuum evaporator*, timbangan analitik, *vorteks*, tabung reaksi, corong pisah, pisau, aluminium foil, kertas saring, rak tabung reaksi, *Laminar Air Flow* (LAF), cawan petri, bejana maserasi, *hairdryer*, *sprayer*, *hotplate*, pipet mikro, pipet tetes, labu ukur, blender, gelas kimia, tisu, batang pengaduk, bunsen, jarum inokulasi, jangka sorong dan pinset. Bahan-bahan yang digunakan adalah daun sirsak, metanol, kertas cakram kosong, kertas cakram antibiotik tetrasiklin, biakan murni *Streptococcus mutans*, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Nutrient Agar* (NA), alkohol, kapas steril, spiritus, NaCl, aquades, kloroform, asam klorida, KI, ammonia, eter, natrium sulfat anhidrat, asam sulfat, timbal (II) asetat, isopropanol, asam cuka anhidrat, FeCl₃, etil asetat, seng, magnesium, kertas lakmus, asam borat, asam oksalat, dan aseton. Sampel yang digunakan adalah daun sirsak berwarna hijau tua yang berasal dari daerah Beurawe, Kecamatan Kuta Alam, Kabupaten Banda Aceh Kota, Provinsi Aceh, Indonesia. Determinasi tanaman sirsak yang digunakan pada penelitian ini dilakukan di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor.

Pembuatan Serbuk Kasar Simplisia [10]

Sebanyak 3 kg daun sirsak dicuci dengan air mengalir hingga bersih dan dilakukan penirisan dan dikeringanginkan hingga rapuh. Daun sirsak kering ditimbang dan dirajang, kemudian dihaluskan dengan blender. Serbuk hasil blender diayak menggunakan ayakan nomor 40, kemudian dikumpulkan dan ditimbang.

Ekstraksi Simplisia [11]

Ekstraksi simplisia dilakukan secara maserasi. Simplisia daun sirsak direndam dengan metanol dengan perbandingan 1:7,5 selama 5 hari dengan sesekali diaduk, selanjutnya disaring sehingga dihasilkan ampas dan ekstrak. Ampas yang dihasilkan direndam kembali dengan 2,5 bagian pelarut yang sama

selama 2 hari dengan sesekali diaduk dan kemudian disaring. Sebanyak 200 g serbuk kasar simplisia ditambahkan 750 mL metanol, diaduk hingga homogen, kemudian ditutup dengan aluminium foil, disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya, dan dibiarkan selama 5 hari sambil satu kali sehari diaduk. Campuran tersebut disaring menghasilkan maserat dan ampas. Maserat dimasukkan dalam wadah pengumpulan, ditutup dengan aluminium foil dan disimpan ditempat yang terlindung cahaya. Ampas dimaserasi kembali dengan 250 mL metanol dengan cara yang sama selama 2 hari. Seluruh maserat dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur tidak lebih dari 40°C hingga diperoleh ekstrak kental [12]. Ekstrak yang didapat ditimbang dan diamati warnanya dan diencerkan dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%.

Penapisan Fitokimia

Uji Alkaloid [12]

Sebanyak 500 mg ekstrak daun sirsak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipindahkan masing-masing 3 tetes kedalam 3 tabung reaksi. Tabung reaksi pertama diteteskan larutan pereaksi LP Meyer, tabung reaksi kedua diteteskan LP Bouchardat dan tabung reaksi ketiga diteteskan LP Dragendorf masing-masing sebanyak 2 tetes. Jika terdapat alkaloid maka LP Meyerakan terbentuk endapan menggumpal putih/kuning. LP Bouchardat terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam. LP Dragendorf akan terbentuk endapan kuning jingga. Ekstrak dikatakan mengandung alkaloid jika 2 dari 3 reaksi diatas memberikan hasil positif.

Uji Glikosida [13]

Sebanyak 3 g ekstrak daun sirsak dimasukkan kedalam labu alas bulat ditambahkan 30 mL campuran etanol-air (7:3), ditambahkan beberapa tetes asam sulfat hingga diperoleh pH 2, direfluks selama 10 menit, dinginkan dan disaring. Sebanyak 20 mL filtrat ditambahkan 25 mL air dan 25 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, didiamkan selama 5 menit, dan disaring. Kemudian filtrat yang dihasilkan diekstraksi menggunakan corong pisah sebanyak 3 kali, dengan 20 mL campuran pelarut kloroform dan isopropanol (3:2). Lapisan organik yang terbentuk dipisahkan, dikumpulkan, ditambahkan natrium sulfat anhidrat dan disaring, kemudian diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C, kemudian dilarutkan dengan 2 mL metanol.

1. Uji terhadap senyawa non gula

Lapisan organik dimasukkan kedalam tabung reaksi, diuapkan diatas penangas air hingga pekat, ditambah 5 tetes asam cuka anhidrat dan 10 tetes asam sulfat sehingga terbentuk warna biru, hijau, merah ungu/ungu (LP Liebermann-Burchardat).

2. Uji terhadap senyawa gula

Lapisan air dimasukkan kedalam tabung reaksi dan diuapkan diatas penangas air hingga pekat, ditambahkan 2 mL air, 5 tetes LP Molish dan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan pada dinding tabung menunjukkan adanya ikatan gula.

Uji Saponin [13]

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun sirsak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan, dan dikocok kuat-kuat hingga terbentuk buih yang tetap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang.

Uji Tanin [13]

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun sirsak dimaserasi dengan akuades 10 mL selama 15 menit dan disaring. Kemudian filtrat diencerkan dengan akuades sampai hampir tidak berwarna. Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 10%, kemudian diamati warna yang terbentuk. Apabila terbentuknya warna biru atau hijau menunjukkan adanya tanin.

Uji Flavonoid [14]

Ekstrak daun sirsak difraksinasi dengan pelarut metanol lalu dipekatkan. Filtrat ditambahkan dengan larutan n-heksana. Residu yang terbentuk diekstraksi dengan 10 mL etanol 80%, ditambahkan 0,5 g magnesium dan HCl 0,5 M. Flavonoid positif jika terbentuk endapan kuning jingga.

Uji Steroid [14]

Sebanyak 1 g ekstrak daun sirsak ditambahkan eter, didiamkan selama 2 jam, dan disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap, kemudian ditambahkan asam asetat anhidrida pada sisa, dan ditetesi dengan asam sulfat pekat (Pereaksi Liebermann-Burchardat). Timbulnya warna ungu dan merah kemudian berubah menjadi hijau biru menunjukkan adanya steroid.

Uji Antibakteri

Sterilisasi [15]

Alat-alat gelas, jarum inokulasi, cawan petri, pinset, vorteks dan tabung reaksi dibungkus

dengan plastik hingga tidak ada celah yang memungkinkan untuk masuknya udara. Bahan-bahan yang digunakan seperti *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA) dan akuades dimasukkan kedalam autoklaf hingga suhunya mencapai 121°C. Setelah mencapai suhu yang diinginkan, bahan didiamkan selama 15 menit didalam autoklaf.

Pembuatan media Nutrient Agar [16]

Sebanyak 28 g *Nutrient Agar* disuspensikan kedalam 1 L akuades dan dipanaskan sampai larut sempurna. Media dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sebanyak 5 mL *Nutrient Agar* dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dimiringkan dengan sudut 45° dan dibiarkan memadat. Media diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C untuk menguji sterilisasinya. Tabung reaksi yang berisikan media *Nutrient Agar*, selanjutnya digunakan untuk menumbuhkan bakteri uji.

Pembuatan media Mueller Hinton Agar [16]

Sebanyak 34 g *Mueller Hinton Agar* dilarutkan kedalam 1 L akuades, diaduk hingga homogen, dan dipanaskan diatas tungku pemanas magnetik hingga terlarut sempurna. Media disterilkan didalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Sebanyak 15 mL *Mueller Hinton Agar* dituangkan kedalam cawan petri steril dengan kedalaman 4 mm, dan media dibiarkan pada tempat yang horizontal hingga mengeras. Cawan petri tersebut digunakan untuk pengujian antibakteri.

Pembiakan Bakteri Uji [17]

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Streptococcus mutans* yang berasal dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. *Streptococcus mutans* sebelum digunakan untuk pengujian diremajakan terlebih dahulu. *S.mutans* yang telah tumbuh digoreskan kembali dengan menggunakan jarum inokulasi pada cawan petri berisi media padat *Nutrient Agar* yang telah disiapkan. Biakan bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Penyiapan inokulum bakteri [16]

Penyiapan inokulum bakteri uji dilakukan dengan cara mengambil bakteri uji menggunakan jarum inokulasi steril dari kultur bakteri dan disuspensikan kedalam tabung reaksi yang berisi 5 mL larutan NaCl 0,9%. Suspensi dihomogenkan dengan vorteks. Sebanyak 750 L suspensi dimasukkan ke dalam kuvet dan dilakukan pengukuran densitas dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625

nm yang setara dengan standar McFarland 0,5 (10^8 CFU/mL).

Uji aktivitas antibakteri [18]

Pengukuran aktivitas bakteri dilakukan dengan metode difusi kertas cakram yaitu dengan meletakkan cakram kertas larutan uji diatas media padat MHA. Setiap cawan petri diisi dengan media *Mueller Hinton Agar* sebanyak 15-20 mL dan dibiarkan beberapa saat hingga memadat. Kemudian suspense *S. mutans* disebarkan sebanyak 0,1 mL yang telah disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland secara merata pada media yang sudah padat dengan menggunakan swab steril. Cawan yang telah diisi media *Mueller Hinton Agar* dibagi menjadi 7 bagian, masing-masing diletakkan kertas cakram yang berisi ekstrak metanol daun sirsak sebanyak 20 dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25% kontrol negatif dan kontrol positif menggunakan tetrasiklin 30 g. Semua perlakuan dilakukan sebanyak empat ulangan. Masing-masing cawan perlakuan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, diamati diameter zona hambat yang terbentuk dan diukur dengan menggunakan jangka sorong (mm). Data pada pengujian ini dianalisis secara deskriptif dengan mengamati diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram.



Gambar 1 Daun Sirsak

III HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi daun sirsak dilakukan di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor menunjukkan bahwa jenis sirsak yang digunakan pada penelitian ini adalah *Annona muricata* L. dari suku Annonaceae (Gambar 1). Determinasi tanaman sirsak bertujuan untuk memastikan jenis tanaman sirsak yang digunakan dalam penelitian dan mendapatkan suatu spesies yang spesifik agar tepat penggunaannya, karena

dalam proses pemanfaatannya tumbuhan memiliki berbagai jenis varietas.

Serbuk Simplisia

Daun sirsak segar yang berwarna hijau tua dikeringanginkan sebanyak 3 kg selama ± 20 hari, dirajang kasar dan dihaluskan dengan menggunakan blender dan kemudian diayak menggunakan ayakan nomor 40 didapatkan serbuk simplisia sebanyak 532 g. Serbuk simplisia daun sirsak menghasilkan karakteristik berupa serbuk agak kasar, berwarna hijau, bau khas daun sirsak dan memiliki rasa yang pahit (Gambar 2).



Gambar 2 Serbuk simplisia dun sirsak

Pemilihan daun sirsak segar yang berwarna hijau tua karena pada daun tersebut diduga mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, kalsium oksalat dan beberapa metabolit skunder lainnya dalam kadar optimum [19].

Ekstrak Metanol Simplisia

Ekstraksi simplisia menggunakan metode maserasi yaitu sebanyak 200 g serbuk simplisia dimaserasi dengan 1,5 L metanol selama 5 hari, kemudian ampas diremaserasi dengan 0,5 L selama 2 hari menghasilkan maserat berwarna hijau pekat sebanyak 3 L. Maserat dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* pada suhu 40°C dan 1 atm menghasilkan 75,75 g ekstrak kental yang berwarna coklat kehitaman dan berbau khas dengan rendemen ekstrak 37,9% (Gambar 3). Penggunaan metanol dikarenakan metanol merupakan pelarut polar yang bersifat universal sehingga diharapkan dapat menarik metabolit sekunder yang bersifat polar hingga semi polar yang terkandung dalam daun sirsak seperti alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid [20]. Kemampuan metanol menarik senyawa tersebut dipengaruhi oleh struktur kimia metanol yang mengandung gugus OH yang bersifat polar, dimana gugus tersebut dapat

berikatan dengan gugus polar dalam metabolit sekunder tumbuhan seperti flavonoid [21].



Gambar 3 Ekstrak metanol daun sirsak

Fitokimia Ekstrak

Kandungan ekstrak daun sirsak pada penelitian ini ditentukan menggunakan penapisan fitokimia. Penapisan fitokimia berfungsi untuk memastikan keberadaan senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak seperti flavonoid, alkaloid, glikosida, saponin, tanin, dan steroid.

Tabel 1 Hasil penapisan fitokimia ekstrak metanol daun sirsak.

No	Kandungan Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	Meyer	+	Terbentuk endapan putih
		Bouchardat	+	Endapan coklat kehitaman
		Dragendorff	+	Endapan kuning jingga
2.	Glikosida			
	Senyawa Non Gula	Liebermen-Bouchardat	+	Larutan berwarna hijau
	Senyawa Gula	Molish	+	Terbentuk cincin berwarna ungu
3.	Saponin	HCl 2 N	+	Busa menetap
4.	Tanin	FeCl ₃	+	Larutan berwarna hijau
5.	Flavonoid	Mg + HCl 0,5M	+	Larutan berwarna merah jingga
6.	Steroid	Liebermen-Bouchardat	+	Larutan berwarna hijau

Keterangan:(+)hasil positif; (-) hasil negatif

Hasil penapisan fitokimia ekstrak metanol daun sirsak menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid, glikosida, steroid, tanin dan saponin (Tabel 1). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, nitrogen pada alkaloid diduga bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat

(II) sehingga membentuk kompleks K⁺ alkaloid yang berupa endapan putih [22]. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Bouchardat terbentuk endapan coklat kehitaman yang menunjukkan adanya alkaloid. Pada pereaksi Dragendorff nitrogen pada alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K⁺ yang merupakan ion logam sehingga terbentuk endapan kuning jingga.

Pada uji tanin, perubahan warna menjadi hijau kehitaman disebabkan oleh reaksi penambahan FeCl₃ dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin terkondensasi. Uji saponin ditandai dengan adanya busa yang menetap pada ekstrak yang dicampur dengan akuades dan HCl 2 N setelah dikocok. Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin yang mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok [23]. Uji glikosida terhadap senyawa gula, terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan setelah penambahan asam sulfat pekat yang menunjukkan adanya ikatan gula pada ekstrak daun sirsak, sedangkan senyawa non gula ditandai dengan terbentuk warna hijau setelah penambahan asam sulfat. Pada uji flavonoid terbentuk warna kuning jingga menunjukkan positif adanya flavonoid yang disebabkan oleh Logam Mg dan HCl pekat mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah jingga. Pada uji steroid dalam percobaan ini memberikan warna hijau-biru setelah penambahan asam asetat anhidrida-asam sulfat pekat [14]. Hasil penapisan fitokimia ekstrak daun sirsak sesuai dengan pendapat Mangan yang menyatakan bahwa daun sirsak mengandung flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin [19]. Hasil tersebut juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Andrisa yaitu daun sirsak mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, glikosida, steroid dan saponin [24]. Komposisi kandungan senyawa kimia dari suatu tanaman dapat mempengaruhi aktivitas biologis dari tanaman tersebut.

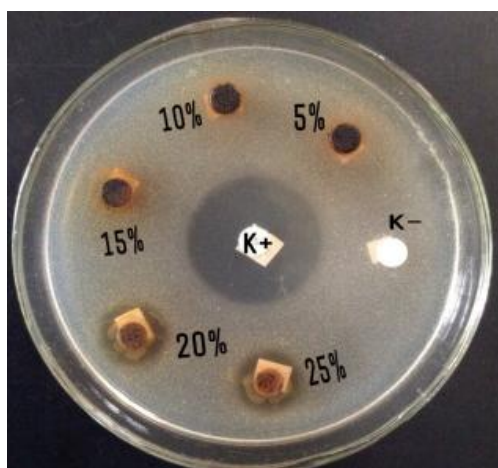
Uji Antibakteri

Aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak diuji dengan menggunakan bakteri *Streptococcus mutans* yang dibiakkan pada media agar miring *Nutrient Agar*. Koloni yang dihasilkan berwarna putih kekuningan dan memiliki permukaan yang cembung. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan berbagai tingkat konsentrasi yang bertujuan untuk mengetahui kenaikan konsentrasi terhadap peningkatan aktivitas antibakteri. Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun

sirsak dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25% masing-masing memiliki diameter hambat sebesar 9,1; 10,57; 11,53; 12,01 dan 13,75 mm. Kontrol positif yang menggunakan tetrasiklin 30 µg memiliki diameter daya hambat sebesar 29,75 mm, sedangkan pada kontrol negatif yang menggunakan pelarut metanol tidak menghasilkan diameter hambatan (Gambar 4).

Tabel 2 Hasil uji antibakteri ekstrak metanol daun sirsak terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

No	Perlakuan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)
1.	P ₂ (ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 5 %)	9,1
2.	P ₂ (ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 10 %)	10,57
3.	P ₃ (ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 15 %)	11,53
4.	P ₄ (ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 20 %)	12,01
5.	P ₅ (ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 25 %)	13,75
6.	P ₆ (metanol)	0,00
7.	P ₇ (tetrasiklin)	29,75



Gambar 4 Hasil uji antibakteri

Daya hambat ekstrak metanol daun sirsak disebabkan karena adanya kandungan senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, steroid dan saponin yang terlihat pada hasil penapisan fitokimia. Senyawa golongan fenolik seperti tanin menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat aktivitas enzim protease pada proses transpor protein sel bakteri, serta menginaktivasi fungsi materi genetik. Tanin juga mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas membran sel dengan membentuk kompleks tanin dengan enzim dan substrat bakteri, sehingga menyebabkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup. Hal tersebut dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri akan terhambat sehingga sel mati. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri adalah dengan cara

merusak membran sel bakteri. Alkaloid berpotensi sebagai antibakteri karena dapat merusak dinding sel melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis sel sehingga sel akan mati. Flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks protein ekstraseluler, sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler [25]. Mekanisme antibakteri yang dimiliki senyawa saponin dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis [26]. Kandungan senyawa kimia glikosida berpotensi sebagai antibakteri dengan cara berpenetrasi ke dalam dinding sel, sehingga menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri.

Hasil penelitian Wisdom telah membuktikan daya antibakteri dari ekstrak metanol daun sirsak efektif menghambat bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 400 mg/mL dengan diameter zona hambat masing-masing $19,5 \pm 0,5$ mm dan $20,5 \pm 0,5$ mm [9]. Ekstrak metanol daun sirsak efektif menghambat *Klebsiella pneumonia* pada konsentrasi 50, 100, 200 dan 400 mg/mL. Pada penelitian ini, ekstrak metanol daun sirsak pada konsentrasi 5% dan 25% memberikan batas diameter hambat masing-masing sebesar 9,16 dan 13,75 mm. Menurut *Farmakope Indonesia* (1995) batas daerah hambat dinilai efektif apabila memiliki diameter daya hambat lebih kurang 14-16 mm. Peningkatan konsentrasi dari 5% ke 25% memiliki perbedaan daya hambat yang bermakna, ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sirsak dengan konsentrasi 25% mempunyai daya hambat yang lebih baik dari 5%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelezer dan Chan yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka aktifitas antibakterinya juga semakin kuat [27]. Efri juga menyatakan bahwa dengan konsentrasi yang semakin tinggi maka kandungan senyawa fenol ataupun zat antibakterinya juga akan semakin banyak, sehingga lebih efektif sebagai antibakteri [28].

KESIMPULAN

Ekstrak metanol daun sirsak menghasilkan ekstrak kental yang berwarna coklat kehitaman dan berbau khas dengan rendemen 37,87% dan kadar air sebesar 18,6%. Ekstrak metanol daun sirsak mengandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, glikosida, steroid, dan saponin. Ekstrak metanol daun sirsak dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri

Streptococcus mutans dengan masing-masing diameter hambat sebesar 9,1; 10,57; 11,53; 12,01 dan 13,75 mm. Penelitian selanjutnya dapat melakukan pengujian dengan meningkatkan konsentrasi ekstrak, dan melakukan isolasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol daun sirsak, sehingga dapat lebih efektif sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Siregar, T., Dhiksawan, F.S., dan Farida, A., 2011. Pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada Bioaktivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas secara In Vitro dan Pemanfaatannya sebagai Zat Aktif pada Pasta Gigi. *Jurnal Kimia*. 5 (1): 9-23.
2. Adewole, S. O., Ezekiel, A., Martins, C. 2006. Morphological Changes Hypoglycemic Effects of *Annona muricata* Linn (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Pancreatic B-Cells of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research*. 9: 173-187.
3. Permatasari, A. A., Besung, I.N.K., dan Mahatmi, H. 2013. Daya Hambat Perasan Daun Sirsak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2 (2): 162-169.
4. Forssten, S.D., Björklund, M., and Ouwehand, A.C. 2010. *Streptococcus mutans*, Caries and Simulation Models. *Nutrients*. 2: 290-298
5. Vijayameena, S., Loganayagi, S.M., and Ramesh, B. 2013. Phytochemical Screening, Assessment of Antibacterial Activity for The Bioactive Compounds in *Annona muricata*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 2 (1): 1-8.
6. Wahyuningtyas, E.D., Ruhadi, I., dan Bargowo, L. 2013. Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Plak Supragingiva. *Periodontic Journal*. 5 (1).
7. Pintauli, S., dan Hamada, T. 2008. Menuju Gigi & Mulut Sehat: Pencegahan dan Pemeliharaan. Universitas Sumatra Utara Press, Medan: 4-6
8. Jannata, R.H., Gunadi, A., dan Ermawati, T. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2 (1).
9. Wisdom, S., Ugoh, G.O., dan Mohammed, B. S.C. 2014. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of *Annona muricata* (L) Leaf Extract. *American Journal of Biological. Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 2 (1).
10. Menteri Kesehatan. 2009. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi pertama. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 261/MENKES/SK/IV/2009.
11. Ditjen POM. 1979. Farmakope Indonesia, Edisi 3. Penerbit Depkes RI. Jakarta.
12. DepkesRI. 1995. Farmakope Indonesia, Edisi 4. Penerbit Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
13. Ditjen POM. 1977. *Materia Medika Indonesia* Jilid 1. Penerbit Direktorat Jenderal Pengawas Obat Dan Makanan, Jakarta
14. Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan dari *Phytochemical Method*, oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro. Penerbit ITB Bandung. Bandung.
15. Pratama, M. R. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Surabaya, Surabaya.
16. WHO. 2003. *Manual for the Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in Developing Word*. Switzerland.
17. Afrilla, M. S. P. 2011. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Terhadap Pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* Secara in Vitro. Skripsi. Universitas Sumatra Utara, Medan.
18. Sunatmo, T.I. 2007. *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Ardy Agency, Jakarta.
19. Mangan, Y. 2009. *Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker*. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hal. 49.
20. Thompson, E. B. 1985. *Drug Bioscreening*. Graceway Publishing Company. America.
21. Loundoun, G. M. 2002. *Organic Chemistry* 4th edition. Oxford University Press. New York.
22. Maliana, Y., Khotimah, S., dan Diba, F. 2013. Aktivitas Antibakteri Kulit *Garcinia mangostana* Linn. Terhadap Pertumbuhan Flavobacterium dan Ecobacterium dari *Captotermes curviganathus* Holmgren. *Jurnal Protobiont*. 2 (1): 7-11.
23. Jaya, A. M. 2010. Isolasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Senyawa Saponin dari Akar Putri Malu (*Misoma pudica*). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi

- Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
24. Andrisa, R. 2012. Karakterisasi Simplisia, Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan n-Heksana Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). Skripsi. Medan: Universitas Sumatera Utara.
25. Ngajow, M., Abidjulu, J., dan Kamu, V. S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Batang Matoa (*Pomitea pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. Manado. Jurnal MIPA UNSRAT. 128-132.
26. Zahro, L., dan Agustini, R. 2013. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. UNESA Journal of Chemistry. 2.
27. Pelczar, M. J., dan Chan, E. C. S. 1998. Dasar-dasar Mikrobiologi. Terjemahan dari Elemen's of Microbiology oleh Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S. S dan Angka, S. L. UI: Press. Jakarta.
28. Efri, dan Titik, N. A. 2004. Keefektifan Ekstrak Mengkudu Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia* Sp. secara in Vitro. Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika. 4 (2): 83-84.