

**Efektifitas Perasan Daun Srikaya
Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Escherichia coli***

(*Annona squamosa* L. Juice Inhibit *Escherichia coli* Growth)

MARIA PRISTI ANRIS YUNIKAWATI
I NENGGAH KERTA BESUNG, HAPSARI MAHATMI

Laboratorium Mikrobiologi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
Jl. P.B.Sudirman Denpasar Bali, Tlp. 0361-223791
Email : mariapristi@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian “Efektivitas Perasan Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Escherichia coli*”. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan : 0% yaitu kontrol negatif (tanpa perlakuan), 25%, 50%, 75% dan 100% yaitu dari masing-masing konsentrasi perasan daun srikaya dan 1 kontrol positif yaitu antibiotik oksitetrasiklin, seluruh perlakuan diulang 4 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perasan daun srikaya (*Annona squamosa* L.) secara signifikan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* ($P < 0,01$). Serta ada kecenderungan peningkatan konsentrasi perasan daun srikaya (*Annona squamosa* L.) meningkatkan pula daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci : *E. coli*, kolibasilosis, daun srikaya (*Annona squamosa* L.)

ABSTRACT

A research entitled “Effectiveness of *Annona squamosa* L. Juice Against Growth Inhibition of *Escherichia coli*” were carried out. The present study was undertaken to investigate the potential of the *Annona squamosa* L. juice as a natural antibacteria to inhibit the growth of *E.coli*. This study uses a Completely Randomized Design method with five treatments : 0% negative control (without treatment), 25%, 50%, 75% and 100%, and four replications from each *Annona squamosa* L. juice concentrate and antibiotic oxytetrasiklin as positive control. The results showed that *Annona squamosa* L. juice significantly inhibit the growth of *E.coli* ($P < 0,01$). There was also a tendency that diameter of inhibition zone increase as the concentration of *Annona squamosa* L. extract was increase.

Keywords : *E. coli*, colibacillosis, *Annona squamosa* L. leaf.

PENDAHULUAN

Kolibasilosis merupakan salah satu penyakit yang paling sering terjadi pada peternakan di Indonesia. Penyakit ini sering dijumpai bahkan seolah-olah telah menjadi penyakit “wajib” pada peternakan. Kerugian ekonomi akibat kolibasilosis cukup tinggi karena infeksi oleh bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) biasanya bersifat primer maupun sekunder dan memperparah penyakit bahkan menyebabkan kematian dengan persentase kematian mencapai 20% (Setiawan, 2009).

Upaya pengendalian penyakit, khususnya kolibasilosis selama ini dilakukan dengan pemberian antibiotik. Namun penggunaan antibiotik dalam pengobatan penyakit seringkali tidak tepat dan produk yang dihasilkan bisa mengandung residu antibiotik. Keberadaan residu antibiotik pada bahan pangan asal ternak sudah diatur dalam UU No. 8 tahun 1998 tentang perlindungan konsumen. Keberadaan residu obat hewan golongan antibiotik dan sulfa, hormon, dan senyawa mikotoksin pada produk ternak seperti susu, telur, dan daging telah dilaporkan di Indonesia. Guna mencegah atau mengobati infeksi penyakit pada ternak tersebut para peternak sering menggunakan obat-obatan antibiotika (Raharjo, 2009).

Keistimewaan tanaman Srikaya (*Annona squamosa* L.) khususnya pada bidang Mikrobiologi ialah terletak pada daun. Robinson (1995), mengungkapkan terdapat 3 komposisi kimia pada daun srikaya yang berfungsi sebagai antibakteria yaitu flavonoid, terpenoid dan alkaloid. Ketiga zat kimia tersebut bekerja menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu fungsi mikroorganisme bakteri (Manoi dan Balittro, 2009). Perkembangan penggunaan obat herbal saat ini tentu merupakan suatu inovasi baru dalam menangani berbagai penyakit yang sedang marak terjadi khususnya pada dunia peternakan. Salah satu penyakit yang masih menjadi kekhawatiran para peternak ialah kolibasilosis.

Adapun tujuan dari penelitian ini ialah guna mengetahui pengaruh dari perasan daun srikaya terhadap pertumbuhan *E. coli* serta guna mengetahui daya hambat pada setiap konsentrasi perasan daun srikaya dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* sebagai penyebab Kolibasilosis.

METODE PENELITIAN

Materi

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah daun Srikaya (*Annona squamosa L.*) sebanyak 500 gram yang diperoleh dari pekarangan sekitar Kampus UNUD Bukit Jimbaran, isolat *E. coli* standar dengan kode ATCC 25922 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FK Unud, Mac Conkey (BD) sebagai media pembiakan bakteri, Mueller-Hinton Agar (*Oxoid*) sebagai media uji efektifitas, NaCl fisiologis, aquades, pepton 10% (*Oxoid*), *paper disc* (*Oxoid*) dan antibiotika Oxitetrasiklin dalam bentuk kertas cakram tunggal.

Metode

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu dengan konsentrasi 0 % (sebagai kontrol negatif), 25 %, 50 %, 75 %, 100 % dan 1 kontrol positif yaitu antibiotik oxytetrasiklin, yang akan diulang sebanyak 4 kali ulangan.

Variabel yang diamati adalah besarnya diameter daya hambat daun Srikaya (*Annona squamosa L.*) (satuan mm) terhadap *E. coli* ATCC 25922 pada media Mueller Hinton Agar (MHA) dari masing-masing perlakuan dengan menggunakan antibiotik Oxytetrasiklin sebagai kontrol positif, kontrol negatif (0%) dengan NaCl fisiologis dan air perasan daun Srikaya dengan konsentrasi 25 %, 50 %, 75 % dan 100 % yang diukur menggunakan jangka sorong.

Pembuatan Perasan Daun Srikaya

Lima lembar daun srikaya teratas diambil pada pohon srikaya dan siapkan 500 gram daun srikaya yang telah dihaluskan dengan cara ditumbuk menggunakan mortar, diperas menggunakan kain kasa steril yang telah dimodifikasi sebelumnya. Hasil perasan 50 ml di tampung di dalam tabung erlenmeyer steril. Langkah berikutnya air perasan yang telah didapat dibuat 5 macam konsentrasi yaitu 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan menggunakan NaCl fisiologis sebagai pengencer.

Pembuatan Kertas Cakram Konsentrasi Perasan Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) Menggunakan Kertas Cakram Kosong (*Oxoid*)

Adapun prosedur pembuatan konsentrasi perasan daun srikaya pada kertas cakram, ialah sebagai berikut (Poeloengan *et al.*, 2007) :

1. 50 kertas cakram kosong (*Oxoid*) dan masing-masing konsentrasi yang telah diperoleh dari perasan daun srikaya yaitu 25%, 50%, 75%, 100% dan 0% (NaCl Fisiologis 0,9%) disiapkan. Untuk tiap konsentrasi membutuhkan 1 cawan petri guna perlakuan perasan dari konsentrasi pada kertas cakram. 5 macam konsentrasi membutuhkan 50 kertas cakram dan 5 cawan petri.
2. Kertas cakram kosong diletakan pada cawan petri steril yang ditutup. Dilakukan penetasan masing-masing konsentrasi menggunakan *micro pippet* dengan ukuran 1000 µl sebanyak 3000 µl. Secara perlahan ditetaskan hingga cairan perasan meresap dengan baik pada kertas cakram.
3. Kertas cakram yang telah berisi perasan daun srikaya dengan berbagai konsentrasi diamkan selama 60 menit hingga cairan perasan daun srikaya dan NaCl Fisiologis 0,9% dapat benar-benar terserap secara sempurna ke dalam kertas cakram.
4. Setelah cukup terserap dan kering, kertas cakram yang telah mengandung konsentrasi siap digunakan.

Prosedur Penentuan Kemampuan Daya Hambat Pertumbuhan *Escherichia coli*

Cara kerja penanaman isolat *E. coli* pada Mueller Hinton Agar dilakukan sesuai dengan Metode Kirby-Bauer yang telah dimodifikasi (Panagan, 2009) yaitu sebagai berikut :

1. Ambil beberapa koloni bakteri isolat *E. coli* segar lalu kultur ke dalam 10 ml larutan pepton 10%, kemudian inkubasikan pada suhu 37°C selama 1 jam hingga didapatkan kekeruhan setara dengan Mc Farland 0,5 (kandungan 10^8 sel/ml).
2. Kultur *E. coli* dituang sebanyak 1 ml pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Media digoyang-goyangkan agar bakteri merata pada permukaan media. Media didiamkan selama 15-30 menit di dalam *Luminar Flow* agar bakteri terserap seluruhnya ke dalam agar.

3. Oxytetrasiklin diletakkan di posisi tengah cawan sebagai kontrol positif, kemudian kertas cakram yang telah dicelupkan masing-masing dalam larutan konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100% diletakkan diatas media yang berisi bakteri di daerah tepi lempeng sehingga membentuk lingkaran dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.
4. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
5. Zona hambat pertumbuhan bakteri dari masing-masing lubang diukur sebagai data penelitian.

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh, diuji dengan Analisis Ragam (Uji F) dan dilanjutkan dengan (Uji Duncan) kemudian dilanjutkan dengan Analisis Regresi yang bertujuan untuk mencari hubungan antara konsentrasi perasan daun srikaya dengan daya hambat *E.coli* ATCC 25922 yang terbentuk. Semua data diolah menggunakan program SPSS.

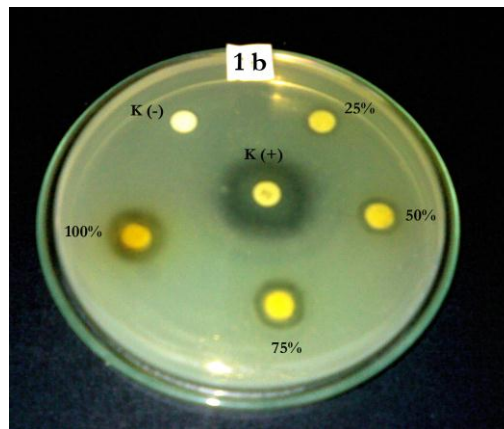
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran diameter daya hambat yang ditimbulkan oleh perasan daun srikaya (*Annona squamosa L.*) dalam konsentrasi (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) dan NaCl Fisiologis 0,9% sebagai kontrol negatif dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 1. Tabel Rataan Diameter Zona Hambat Perasan Daun Srikaya pada Berbagai Konsentrasi

Konsentrasi (%)	Rata - rata	N	Std. Deviasi
0	.000	4	.0000
25	8.225	4	.0957
50	9.225	4	.1708
75	10.303	4	.1466
100	11.233	4	.1464
Total	7.797	20	4.1335

Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi.



Pada tabel dan gambar diatas ditunjukkan besar rata-rata daya hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi perasan daun srikaya. Pada konsentrasi 0% tidak terbentuk daya hambat, sedangkan pada konsentrasi 25% daya hambat yang terbentuk adalah sebesar 8,225 mm, pada konsentrasi 50% daya hambat yang terbentuk sebesar 9,225 mm, pada konsentrasi 75% daya hambat yang terbentuk sebesar 10,3 mm dan pada konsentrasi 100% daya hambat yang terbentuk sebesar 11,25 mm. Daya hambat yang terbentuk merupakan daerah bening yang berada di sekitar perlakuan dan tidak terdapat pertumbuhan koloni dari bakteri apapun.

Masing-masing konsentrasi perasan daun srikaya memiliki perbedaan pada zona hambat yang ditimbulkan. Ini menyatakan bahwa semakin tinggi kadar zat aktif (flavonoid, alkaloid dan terpenoid) pada air perasan daun srikaya maka semakin besar pula aktivitas daya antibakterinya. Hal ini dapat dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk pada kertas cakram yang bersisi konsentrasi lebih tinggi yang lebih besar daripada konsentrasi yang lebih rendah. Ini menunjukkan, ada kecenderungan semakin tinggi konsentrasi perasan daun srikaya maka zona hambat yang terbentuk semakin besar.

Oxytetrasiklin dengan kadar konsentrasi 30 µg yang digunakan sebagai kontrol positif memberikan zona hambat terbesar. Dengan hasil perhitungan rata-rata diameter daya hambat yang terbentuk terhadap bakteri *E.coli* ATCC 25922 sebesar 21,27 mm. Mengacu pada standar menurut Rao (2011), yang menyatakan jika diameter ≥ 19 maka antibiotik oxytetrasiklin sensitif atau peka terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Padhi (2011) menyatakan bahwa srikaya memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Zona hambat pada media MHA yang telah berisi bakteri *E.coli* dapat terbentuk karena adanya

zat-zat aktif yang terkandung di dalam daun srikaya, seperti flavonoid, alkaloid dan terpenoid yang memiliki aktivitas bakteriostatik (Kartnig, 1996).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein sehingga mengganggu proses metabolisme (Poeloengan, 2010). Fenol merupakan senyawa organik yang mengandung satu gugus hidroksil atau lebih yang melekat pada cincin karbon atau cincin aromatik dan umum digunakan sebagai preparat antimikroba. Selain berfungsi sebagai pengatur fotosintesis pada tumbuhan, flavonoid juga mempunyai daya antimikroba dan antivirus (Dinata, 2008). Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme bakteri (Manoi dan Balittro, 2009). Mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Sabir (2008), dalam penelitiannya mendapatkan bahwa flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri selain itu juga menghambat motilitas bakteri. Timbulnya zona hambat pada penelitian ini memperkuat pernyataan beberapa peneliti lain mengenai kemampuan zat aktif flavonoid pada tumbuhan srikaya yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Saleem, 2008).

Alkaloid memiliki fungsi yang bermacam-macam diantaranya sebagai racun untuk melindungi tanaman dari serangga dan binatang, sebagai hasil akhir dari reaksi detoksifikasi yang merupakan hasil metabolit akhir dari komponen yang membahayakan bagi tanaman, sebagai faktor pertumbuhan tanaman dan cadangan makanan. Alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa terpenoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu monoterpenoid linalool, diterpenoid (-) *hardwicklic acid*, *phytol*, triterpenoid saponin dan triterpenoid glikosida (Lim et al., 2006). Senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya dinding sel, dimana dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tetapi tidak sempurna (Ajizah, 2004).

Diameter zona hambat yang terbentuk oleh berbagai konsentrasi dari perasan daun srikaya memiliki ukuran yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan diameter zona hambat dari oksitetrasiklin. Ini dapat dipengaruhi oleh penggunaan metode ekstraksi daun srikaya

yang belum maksimal dalam mengolah zat aktif antibakteri yang terdapat pada daun srikaya. Padhi (2011), dalam jurnalnya mengenai evaluasi potensi antibakteria pada tumbuhan srikaya yang menggunakan *Skrining Test* dan *Agar Cup Method*, menyatakan bahwa zat aktif yang terkandung dalam tanaman srikaya seperti flavanoid, alkaloid dan terpenoid lebih potensial menghambat bakteri gram positif. Zat aktif antibakteri yang terdapat pada daun perasan srikaya dapat bekerja pada *E.coli* yang merupakan bakteri gram negatif, tetapi tidak sensitif seperti pada bakteri gram positif.

Pengujian zat aktif antibakteri herbal yang diuji bersamaan dengan antibiotik kimia yang sudah dipergunakan secara klinik tidak selalu bisa diandalkan untuk perbandingan dan penilaian secara akurat. Hal ini dikarenakan tingkat gangguan yang tinggi yang melekat dalam penggunaan metode penelitian yang biasanya timbul dari masalah metode difusi (Dickert *et al.*, 1981).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistik, maka dapat disimpulkan bahwa perasan daun srikaya (*Annona squamosa* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. Serta ada kecenderungan semakin tinggi konsentrasi perasan daun srikaya maka zona hambat yang terbentuk semakin besar.

Saran

Saran yang dapat disampaikan adalah perlu dilakukan peningkatan metode ekstraksi untuk mendapatkan zat-zat aktif secara lebih murni, perlu ditingkatkan jumlah perlakuan dan ulangan guna mendapatkan zona hambat yang lebih baik serta perlu digunakan hewan coba untuk melihat kemampuan daun srikaya yang maksimal sebagai antibakteri alami.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Bapak Drh. I Gede Kertayadnya, Msc.,PhD, Ibu Dati Purnawati, A.Md, Bapak drh. I Ketut Narcana, Bapak I Nengah Suparta serta seluruh staf yang bekerja di Laboratorium Bakteriologi Balai Besar Veteriner Denpasar yang telah membantu dalam pengerjaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. Terdapat pada http://www.webng.com/bioscientiae/v1n1/v1n1_ajizah.pdf. Diakses pada 15 Maret 2011.
- Dickert, H., Machka, K. and Braveny, I. (1981). The uses and limitations of disc diffusion in the antibiotic sensitivity testing of bacteria. *Infection* 9: 18-24.
- Dinata. 2008. Basmi Lalat dengan Jeruk Manis. <http://www.litbang.depkes.go.id/lokaciamis/artikel/lalat-arda.htm>. Diakses pada tanggal 23 Mei 2011
- Kartnig, T. 1996. Clinical Applications of *Centella asiatica* (L.) Urban dalam Herbs, Spices, and Medicinal Plants. Vol. 3 : 145-162. Cracker LE dan Simon JE. The Haworth Press. London.
- Kotkar HM, *et al.* 2002. Antimicrobial and Pesticidal Activity of Partially Purified Flavonoids of *Annona squamosa*. *Pest Mang. Sci.* 58 : 33-7.
- Lim, S. Y., Bauermeister, A., Kjonaas, R. A., and Gosh, S. K., 2006. Phytol-Based Novel Adjuvants in Vaccine Formulation: 2. Assessment of Efficacy in the Induction of Protective Immune Responses to Lethal Bacterial Infections in Mice, Departement of Life Science, Indiana State University, Terre Haute, IN 47809, USA. Terdapat pada <http://www.jibtherapies.com/content/4/1/5> Diakses pada tanggal 12 Juni 2011
- Manoi, F. & Balittro. 2009. *Binahong (Anredera Cordifolia) Sebagai Obat*. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Padhi, L.P., Panda, S.K., Satapathy, S.N. and Dutta, S.K. 2011. *In vitro* Evaluation of Antibacterial Potential of *Annona squamosa* L. and *Annona reticulate* L. from

Similipal Biosphere Reserve, Orissa, India. *Journal of Agricultural Technology* 2011 Vol. 7(1): 133-142.

Panagan, A. T. dan Syarif, N. 2009. Uji Daya Hambat Asap Cair Hasil Pirolisis Kayu Pelawan (*Tristania abavata*) Terhadap Bakteri *Echerichia Coli*. *Jurnal Penelitian Sains* Edisi Khusus Desember 2009. (C) 09:12-06

Poeloengan, M., Andriani., Susan., Komala, I., Hasnita, M. 2007. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (*Largerstoremia speciosa Pers*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. Terdapat pada http://bbalitvet.litbang.deptan.go.id/ind/attachments/217_29.pdf. Diakses pada tanggal 13 April 2011.

Poeloengan, M. dan Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). Terdapat pada http://bbalitvet.litbang.deptan.go.id/ind/attachments/327_69.pdf. Diakses pada tanggal 13 April 2011.

Raharjo, Yonathan. 2009. Prinsip Kehati-Hatian Pra Produksi Produk Ternak Yang Aman. Terdapat pada <http://kedokteranhewan.blogspot.com/2009/01/prinsip-kehati-hatian-pra-produksi.html>. Diakses pada tanggal 22 Januari 2011.

Rao, S. 2011. *Zone Of Inhibitions For Various Antibiotics-Kirby Bauer Disk Diffusion*. Terdapat pada http://www.microrao.com/micronotes/pg/kirby_bauer.pdf. Diakses pada tanggal 13 April 2011.

Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB: Bandung.

Sabir, A. 2008. *In Vitro* Antibacterial Activity of Flavonoids *Trigona Sp* Propolis Against *Streptococcus Mutans*. Terdapat pada <http://www.journal.unair.ac.id/filerPDF/DENTJ-38-3-08.pdf>. Diakses pada tanggal 18 Maret 2011.

Saleem, M., AJM, Christina., N, Chidambaranathan., V, Ravi., Gauthaman, K. 2008. Hepatoprotective Activity of *Annona squamosa* Linn. On experimental Animal Model. *International Journal of Applied Research in Natural Products* Vol. 1 (3), pp. 1-7.

Setiawan I. 2009. Penyakit pada Ayam. [terhubung berkala]. <http://www.centralunggas.com/2009/penyakit-pada-ayam.html>. [29 Januari 2011].