

EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI PVA-EKSTRAK DAUN SIRSAK SEBAGAI PENUTUP LUKA

¹⁾Leili Yatur Rohma, ²⁾Diah Hari Kusumawati

¹⁾ Program Studi Fisika, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya, email: leili.19013@mhs.unesa.ac.id

²⁾ Program Studi Fisika, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya, email: diahkusumawati@unesa.ac.id

Abstrak

Daun sirsak (*Annona muricata* L) merupakan salah satu tanaman obat yang ada di Indonesia. Ekstrak daun sirsak memiliki kandungan kimia seperti tanin, alkaloid, dan fenol yang dapat melawan pertumbuhan beberapa bakteri pada luka seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sehingga dapat digunakan sebagai penutup luka (*wound dressing*). Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendeskripsikan dan menganalisis efektivitas antibakteri *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fabrikasi *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dilakukan dengan menggunakan metode *electrospinning* yang selanjutnya diuji porositas dan antibakteri. Hasil penelitian menjelaskan *nanofiber* PVA-Daun Sirsak memiliki ukuran pori sebesar 0,24 μm - 0,48 μm , porositas sebesar 53% - 66%, dan dapat menghambat aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan efektivitas sebesar 74% dan 33%.

Kata Kunci: antibakteri, *nanofiber*, daun sirsak

Abstract

Soursop or *Annona muricata* L is one of the medicinal plants in Indonesia. Soursop leaf extract contains chemical compounds such as tannins, alkaloids and phenols which can fight the growth of some bacteria in wounds such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* so that they can be used as wound dressings. The purpose of this study was to describe and analyze the effectiveness of PVA-Soursop Leaf *nanofiber* antibacterial in inhibiting *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. PVA-Soursop Leaf *nanofiber* fabrication was carried out using the *electrospinning* method which was then tested for porosity and antibacterial properties. The results of the study explained that PVA-Soursop Leaf *nanofiber* had a pore size of 0.24 μm - 0.48 μm , a porosity of 53% - 66%, and could inhibit antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria with an effectiveness of 74% and 33%.

Keywords: antibacterial, *nanofiber*, soursop leaf

I. PENDAHULUAN

Penutup luka memegang peranan penting dalam proses penyembuhan luka, yakni dengan mempercepat penyembuhan pada luka sekaligus melindungi luka dari faktor risiko eksternal (Chen *et al.*, 2020). Penutup luka tradisional merupakan penutup luka yang menggunakan perban dan kapas sebagai penutup dan merupakan penutup luka yang biasa digunakan. Namun penutup luka jenis ini tidak dapat mempertahankan permukaan luka yang lembab (luka dalam keadaan kering) sehingga menghambat penyembuhan luka (Xiao dan Jia, 2018). Hal ini dikarenakan luka dengan keadaan kering tidak dapat

meregenerasi jaringan pada luka, oleh karena itu dilakukan alternatif penutup luka berbasis *nanofiber electrospun* yang memiliki karakteristik ideal sebagai penutup luka. *Nanofiber* penutup luka yang difabrikasi dengan teknologi *electrospinning* memiliki beberapa keunggulan. Pertama, struktur dan fungsi biologisnya mirip dengan matriks ekstraseluler alami (ECM) yakni menyediakan lingkungan mikro yang ideal untuk adhesi sel, proliferasi, migrasi dan diferensiasi (Lan *et al.*, 2021). Selanjutnya, membran *nanofiber* memiliki struktur berpori menjadikan membran *nanofiber electrospun* dapat menjadi penghalang masuknya patogen/kuman, serta dapat secara efektif dicampur ekstrak herbal yang memiliki sifat antibakteri (Augustine *et al.*, 2020). Dari penjelasan tersebut menunjukkan bahwa *nanofibers electrospun* memiliki potensi besar dalam persiapan penutup luka bioaktif yang ideal.

Pada penelitian ini dibuat sistem penutup luka dengan aktivitas antibakteri berupa *nanofiber* PVA-Daun Sirsak menggunakan teknik *electrospinning*. Penggunaan PVA sebagai bahan dasar dalam penelitian ini dikarenakan PVA merupakan salah satu biomaterial yang dapat difabrikasi menjadi *nanofiber* menggunakan metode *electrospinning*. PVA merupakan polimer yang memiliki sifat yang tidak beracun, larut dalam air, biokompatibel dan *biodegradable* (Çay *et al.*, 2014). Ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas antimikroba yang melawan pertumbuhan beberapa bakteri seperti *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus aureus* dan bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi kulit (Solomon *et al.*, 2014).

II. METODE

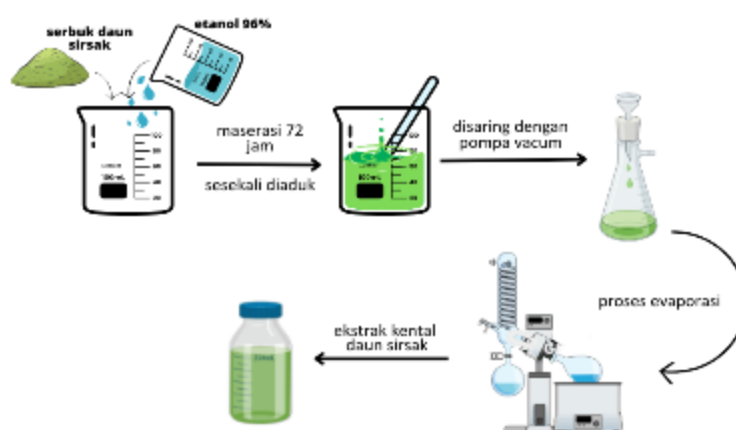
A. Rancangan Penelitian

Bahan dan Alat

Pada penelitian dibutuhkan alat-alat sebagai berikut yaitu, neraca digital, gelas kimia, kertas saring, *rotary evaporator*, magnetik stirrer, alat *electrospinning*, cawan petri. Untuk bahan yang dibutuhkan dalam penelitian meliputi PVA, serbuk daun sirsak, aquades, etanol, media nutrient agar, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Ekstraksi Daun Sirsak

Ekstraksi daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan serbuk daun sirsak. Serbuk daun sirsak dilarutkan menggunakan pelarut etanol selama 3 hari di ruangan gelap. Larutan disaring setelah 3 hari dan dilakukan evaporasi hingga menghasilkan larutan kental ekstrak daun sirsak. Hasil ekstraksi daun sirsak dapat dilihat pada **Gambar 1**, larutan kental ekstrak daun sirsak selanjutnya dicampur pada larutan PVA untuk fabrikasi *nanofiber* PVA-Daun Sirsak.

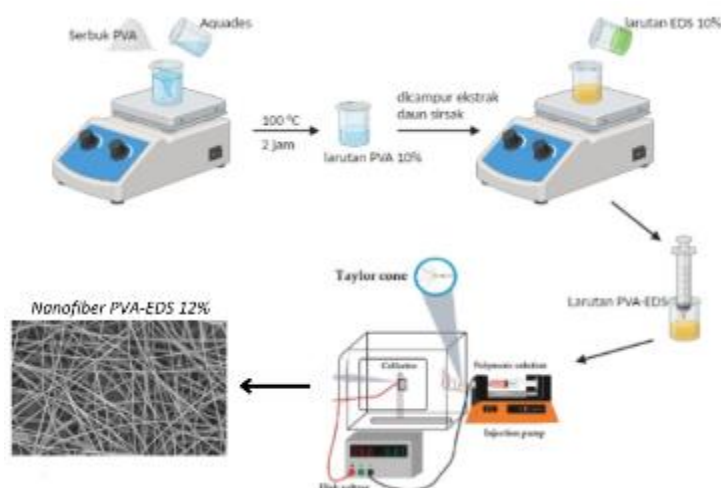


Gambar 1. Proses Ekstraksi Daun Sirsak

Fabrikasi dengan Alat *Electrospinning*

Fabrikasi *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dilakukan menggunakan metode *electrospinning* dengan melarutkan terlebih dahulu serbuk PVA ke dalam pelarut aquades untuk menghasilkan larutan PVA 10%, selanjutnya larutan ekstrak kental daun sirsak dicampurkan ke dalam larutan PVA sehingga menghasilkan larutan PVA-Daun Sirsak. Larutan PVA-Daun Sirsak yang telah homogen dipintal menggunakan alat

electrospinning untuk membentuk *nanofiber* PVA-Daun Sirsak, hasil *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Hasil Fabrikasi *Nanofiber* PVA-Daun Sirsak

Pengujian *Nanofiber*

Nanofiber PVA-Daun Sirsak yang telah difabrikasi dilakukan uji ukuran pori permukaan SEM menggunakan *software* ImageJ, uji porositas menggunakan metode bayangan SEM dengan *software* Origin, dan uji antibakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC).

B. Variabel Operasional Penelitian

Konsentrasi larutan PVA-Daun Sirsak 10%, 12%, 14%, dan 16% sebagai variabel manipulasi. Parameter alat *electrospinning* yaitu tegangan 15 kV, laju alir 2 ml/jam, dan jarak *nozzle* 12 cm sebagai variabel kontrol. Ukuran pori (μm) *nanofiber*, nilai porositas (%) *nanofiber*, dan efektivitas antibakteri (%) *nanofiber* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sebagai variabel respon.

C. Teknik Pengumpulan Data

Pengujian SEM digunakan untuk mengetahui ukuran pori dan nilai porositas *nanofiber* PVA-Daun Sirsak. Uji antibakteri dilakukan berdasarkan analisis kuantitatif dengan *Staphylococcus aureus* dan *Echerichia coli* sebagai bakteri uji. Disiapkan kultur bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* medium *Nutrient Broth* (NB) yang telah diinkubasi selama 24 jam. Diukur *Optical Density* bakteri dengan *spectrophotometer* UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm. Diencerkan hingga mendapatkan OD 0,1. Diencerkan 1000x. Sebanyak 20 μl bakteri diinfeksi pada sampel uji dengan *nanofiber* + bakteri sebagai kontrol. Diinkubasi selama 30 menit. Diswab dengan cotton steril. Dichelupkan ke aquades steril dalam *microtube*. Dilakukan pengenceran sampel sampai 10^{-4} . Diambil 100 μl dari pengenceran 10^{-4} dan dimasukkan ke dalam cawanpetri steril. Dituang medium NA pada masing-masing cawan petri yang berisi sampel. Dihomogenkan dengan metode digoyang membentuk angka delapan. Diinkubasi selama 1 x 24 jam untuk pengamatan koloni bakteri. Dihitung banyaknya koloni bakteri dan dengan *colony counter*. Hasil uji antibakteri berupa jumlah koloni bakteri.

D. Teknik Pengolahan Data

Ukuran pori tiap sampel diukur menggunakan *software* ImageJ dengan mengukur 50 titik pori pada *nanofiber* kemudian dirata-rata. Porositas *nanofiber* PVA-Daun Sirsak diukur menggunakan *Software* Origin dan didapatkan data berupa gambar 3D *Surface* tiap sampel, selain itu didapatkan data volume pori dan volume total sampel, data tersebut kemudian diolah menggunakan persamaan (1) untuk mengetahui nilai porositas.

$$\text{Porositas (\%)} = \frac{\text{Volume pori}}{\text{Volume total}} \times 100\% \dots \dots (1)$$

Kelimpahan bakteri dan efektivitas antibakteri *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dapat diketahui dengan menghitung jumlah koloni bakteri yang terbentuk setelah *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jumlah koloni bakteri diukur

menggunakan *colony counter*, kelimpahan bakteri dan efektivitas antibakteri dihitung menggunakan persamaan (2) dan persamaan (3) :

$$\text{Kelimpahan bakteri} \left(\frac{\text{CFU}}{\text{ml}} \right) = \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran} \dots \dots (2)$$

$$\text{Efektivitas antibakteri} (\%) = \frac{\text{selisih jumlah koloni}}{\text{jumlah koloni kontrol}} \times \div 100\% \dots \dots (3)$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Fabrikasi *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dilakukan dengan alat *electrospinning*. *Nanofiber* yang dihasilkan akan digunakan sebagai penutup luka. Penutup luka harus memiliki karakteristik seperti dapat menghalangi masuknya bakteri sehingga membantu proses penyembuhan pada luka. Oleh karena itu diperlukan pengujian antibakteri untuk mengetahui karakteristik *nanofiber* PVA-Daun Sirsak.

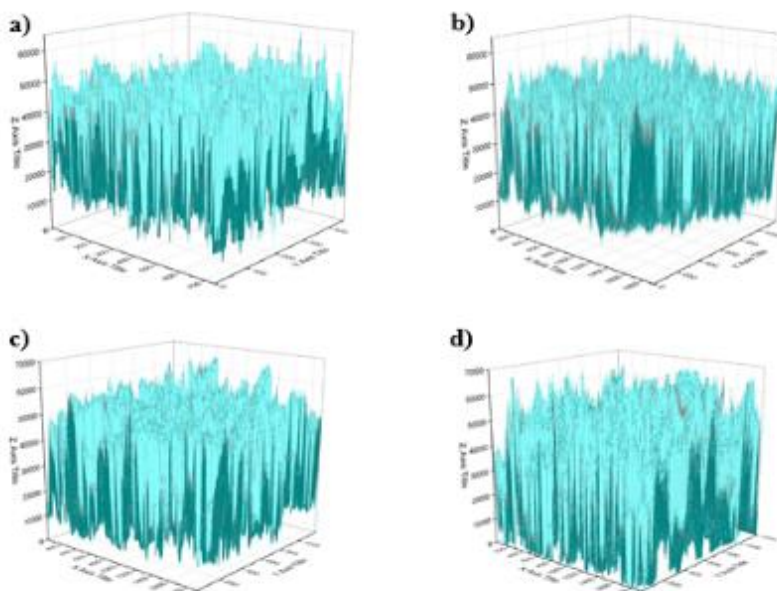
Porositas *Nanofiber*

Ukuran pori tiap sampel *nanofiber* diukur menggunakan *Software ImageJ* dari gambar morfologi SEM, pada **Tabel 1** dapat diketahui *nanofiber* PVA-Daun Sirsak (10, 12, 14, 16) % memiliki ukuran pori berturut-turut sebesar (0,24, 0,25, 0,35, 0,48) μm . *Nanofiber* non-woven sebagai *wound dressing* yang umum digunakan adalah pori dengan ukuran berkisar antara 0,05 μm - 2 μm . Ukuran pori tersebut cukup kecil dan mampu untuk melindungi dan mengisolasi luka dari bakteri serta mengurangi risiko infeksi pada luka (Sadeghi-Ashbash *et al.*, 2022). Berdasarkan standar di atas dapat diketahui bahwa *nanofiber* PVA-Daun Sirsak memiliki ukuran pori yang sudah memenuhi syarat untuk dijadikan *wound dressing*.

Tabel 1. Hasil Data Ukuran Pori *Nanofiber*

<i>Nanofiber</i> PVA-Daun Sirsak	Ukuran Pori (μm)
10%	0,24
12%	0,25
14%	0,35
16%	0,48

Nilai porositas *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dapat dilihat pada **Gambar 4**, *nanofiber* PVA-EDS (10%, 12%, 14%, dan 16%) memiliki porositas masing-masing sebesar (53%, 56%, 55%, dan 66%). Pada gambar 3D *Surface* (Gambar 4) warna biru tua menunjukkan porositas *nanofiber* PVA-Daun Sirsak, sedangkan warna biru muda menunjukkan adanya *fiber*.




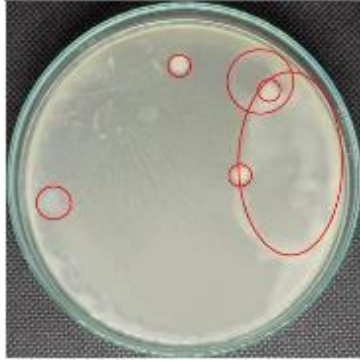
Gambar 4. Porositas *Nanofiber* PVA-Daun Sirsak a) 10% b) 12% c) 14% d) 16%

Porositas yang lebih tinggi bermanfaat untuk menyerap kelebihan eksudat, dapat melakukan pertukaran gas dan cairan pada luka, namun jika porositas sangat tinggi maka bakteri akan dapat dengan mudah keluar masuk pembalut luka sehingga akan menghambat penyembuhan luka (Xia *et al.*, 2020). Pemilihan *nanofiber* diharapkan memiliki porositas yang dapat melakukan pertukaran gas dengan baik sehingga dapat menjaga kelembapan pada luka sekaligus dapat menghalangi masuknya bakteri pada luka.

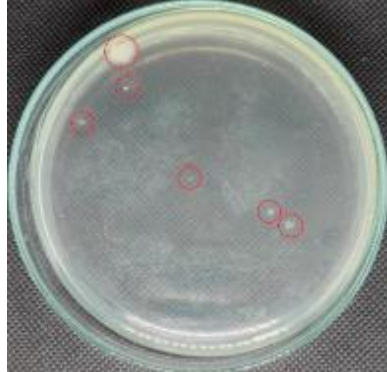
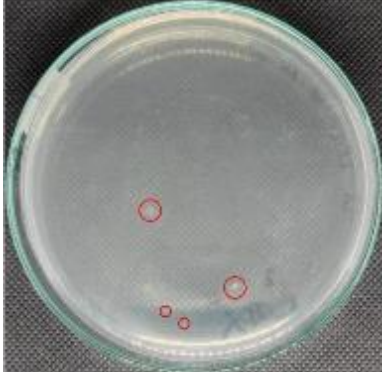
Efektivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan berdasarkan *Internasional Standart ISO 22196* yang bertujuan untuk mengukur dan menganalisis efektivitas antibakteri *nanofiber* PVA-Daun Sirsak 12% terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Pertumbuhan bakteri pada media agar tanpa *nanofiber* digunakan sebagai kontrol positif. Hasil uji antibakteri berupa jumlah koloni bakteri pada medium agar yang telah diinkubasi selama 24 jam. Jumlah koloni bakteri yang telah ditentukan diolah menggunakan persamaan (2) untuk mengetahui jumlah kelimpahan bakteri (CFU/ml) dan persamaan (3) untuk mengetahui efektivitas antibakteri *nanofiber* PVA-Daun Sirsak.

Tabel 2. Hasil Uji Antibakteri *Nanofiber* PVA-Daun Sirsak 12% terhadap *Staphylococcus aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i> (gram positif) tanpa <i>nanofiber</i> (kontrol positif)	<i>Nanofiber</i> PVA-Daun Sirsak 12% + <i>Staphylococcus aureus</i>
	
Koloni bakteri = 23×10^4 CFU/ml	Koloni bakteri = 6×10^4 CFU/ml

Tabel 3. Hasil Uji Antibakteri *Nanofiber* PVA- Daun Sirsak 12% terhadap *Escherichia coli*

<i>Escherichia coli</i> (gram positif) tanpa <i>nanofiber</i> (kontrol positif)	<i>Nanofiber</i> PVA-Daun Sirsak 12% + <i>Escherichia coli</i>
	
Koloni bakteri = 6×10^4 CFU/ml	Koloni bakteri = 4×10^4 CFU/ml

Hasil uji antibakteri dapat dilihat pada **Tabel 2 dan 3**, untuk kontrol positif *Staphylococcus aureus* tanpa *nanofiber* jumlah koloni bakteri sebesar 23×10^4 CFU/ml, sedangkan sampel *Staphylococcus aureus* dengan *nanofiber* PVA-Daun Sirsak jumlah koloni bakteri mengalami penurunan menjadi 6×10^4 CFU/ml, hal ini

membuktikan bahwa *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan efektivitas 74%. Kontrol positif *Escherichia coli* tanpa *nanofiber* menghasilkan jumlah koloni bakteri sebesar 6×10^4 CFU/ml, sedangkan sampel *Escherichia coli* dengan *nanofiber* PVA-Daun Sirsak jumlah koloni bakteri mengalami penurunan menjadi 4×10^4 CFU/ml, hal ini membuktikan bahwa *nanofiber* PVA-Daun Sirsak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan efektivitas 33%.

Efektivitas antibakteri *nanofiber* PVA-Daun Sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli* lebih kecil, hal ini dikarenakan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang hanya memiliki satu lapisan tunggal peptidoglikan sedangkan bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki tiga lapisan yaitu membran luar, dinding sel dan membran plasma sehingga bakteri *Escherichia coli* lebih tahan terhadap kandungan antimikroba pada *nanofiber* PVA-Daun Sirsak (Chylen dan Jamiltur, 2019). Peptidoglikan merupakan komponen utama dari bakteri Gram positif, sedangkan lipid merupakan komponen terbesar penyusun bakteri Gram negatif.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkulator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri, sedangkan untuk mekanisme kerja antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis (Rijayanti *et al.*, 2014).

IV. PENUTUP

A. Simpulan

Nanofiber PVA-Daun Sirsak memiliki ukuran pori sebesar $0,24 \mu\text{m} - 0,48 \mu\text{m}$, porositas sebesar 53% - 66% dan dapat menghambat aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan efektivitas sebesar 74% dan 33%. Sampel *Nanofiber* PVA-Daun Sirsak dengan bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan jumlah koloni bakteri sebesar 6×10^4 CFU/ml, sedangkan sampel *Nanofiber* PVA-Daun Sirsak dengan bakteri *Escherichia coli* menghasilkan jumlah koloni bakteri sebesar 6×10^4 CFU/ml.

B. Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan bahan daun sirsak langsung dari pohon yang dijadikan serbuk sehingga diharapkan memiliki efektivitas antibakteri yang lebih tinggi. Melakukan pengujian antibakteri semua variasi sehingga didapatkan data yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Augustine, R., Rehman, S.R.U., Ahmed, R., Zahid, A.A., Sharifi, M., Falahati, M., and Hasan, A. 2020. Electrospun Chitosan Membranes Containing Bioactive and Therapeutic Agents for Enhanced Wound Healing. *Int. J. Biol. Macromol*, 156, 153-170.
- Çay, A., Miraftab, M., and Perrin Akçakoca Kumbasar, E. 2014. Characterization and swelling performance of physically stabilized electrospun poly(vinyl alcohol)/chitosan nanofibres. *European Polymer Journal*, 61, 253-262.
- Chen, K., Wang, F., Liu, S., Wu, X., Xu, L., Zhang, D. 2020. In situ reduction of silver nanoparticles by sodium alginate to obtain silver-loaded composite wound dressing with enhanced mechanical and antimicrobial property. *Int. J. Biol. Macromol*, 148, 501-509.
- Chylen, S.R., & Jamiltur, R. 2020. BAKTERIOLOGI DASAR. UMSIDA Press.
- Lan, X., Liu, Y., Wang, Y., Tian, F., Miao, X., Wang, H., and Tang, Y. 2021. Coaxial electrospun PVA/PCL nanofibers with dual release of tea polyphenols and ϵ -poly(L-lysine) as antioxidant and antibacterial wound dressing materials. *Int. J. Pharm*, 601, 120525.
- Rijayanti, R.P. 2014. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO.

- Sadeghi-Aghbash, M., Rahimnejad, M., Adeli, H., and Feizi, F. 2022. Wound Healing: An Overview of Wound Dressings on Health Care. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, XX(XX), 1-15.
- Solomon, W., Ugoh, S.C., and Mohammed, B. 2014. Phytochemical screening and antimicrobial activities of *Annona muricata* (L) leaf extract. *AJBCPS*, 2:01-07.
- Xia, J., Zhang, H., Yu, F., Pei, Y., and Luo, X. 2020. Superclear, Porous Cellulose Membranes with Chitosan-Coated Nanofibers for Visualized Cutaneous Wound Healing Dressing. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 12, 24370–24379.
- Xiao, L., and Jia, G. 2018. Modern wound dressing using polymers/biopolymers. *J. Mater. Sci. Eng*, 07, 7–10.