

Aktivitas Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dan Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*Suprianto¹, Sri Zuwinda Zusya Pane², Sumardi³^{1,2,3}Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam-Indonesiasrizuwindazp@gmail.com; *ekahasbi@gmail.com; mardisaad@gmail.com

Received: 26 Maret 2025; Revised: 20 April 2025; Accepted: 30 April 2025

DOI: <https://doi.org/10.52622/jisk.v7i1.03>**Abstract**

Background: Bacterial infections caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* remain clinically relevant due to their ability to cause skin and gastrointestinal infections. The growing concern over antimicrobial resistance has increased interest in plant-derived antibacterial agents. Soursop leaves (*Annona muricata* L.) and red dragon fruit peel (*Hylocereus polyrhizus*) contain secondary metabolites that may contribute to bacterial growth inhibition. **Objective:** This study aimed to evaluate the antibacterial activity of combined ethanolic extracts of *A. muricata* leaves and *H. polyrhizus* peel against *S. aureus* and *E. coli*, and to determine the most effective extract ratio based on inhibition zone diameter. **Methods:** This laboratory experimental study used the disc diffusion method on Nutrient Agar medium. The plant materials were extracted by maceration using 70% ethanol. Five extract ratios were tested, namely 0.05:2.95, 0.10:2.90, 0.15:2.85, 0.20:2.80, and 0.25:2.75. Amoxicillin was used as the positive control, while distilled water served as the negative control. Inhibition zones were measured after 24 hours of incubation at 37°C. **Results:** The extract combinations showed weak antibacterial activity against *S. aureus*, with mean inhibition zones ranging from 1.08 to 3.18 mm. Against *E. coli*, four ratios showed weak activity, while the 0.25:2.75 ratio produced moderate inhibition with the highest mean zone of 5.18 mm. The positive control produced a strong inhibition zone of 13.13 mm, whereas the negative control showed no inhibition. **Conclusion:** The combination of *A. muricata* leaf and *H. polyrhizus* peel extracts demonstrated limited antibacterial activity and did not indicate a strong synergistic effect. The 0.25:2.75 ratio showed the best activity against *E. coli* and may be considered for further optimization using higher concentrations and more specific antibacterial assays.

Keywords: *Annona muricata* L.; *Hylocereus polyrhizus*; antibacterial activity; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi akibat bakteri masih menjadi salah satu tantangan utama dalam bidang kesehatan karena berkontribusi terhadap morbiditas, mortalitas, dan peningkatan beban pelayanan kesehatan. Permasalahan ini semakin kompleks dengan meningkatnya resistensi antimikroba, yaitu kondisi ketika bakteri mengalami penurunan kepekaan terhadap antibiotik yang sebelumnya efektif. Analisis global menunjukkan bahwa resistensi antimikroba berhubungan dengan beban kematian yang tinggi dan diproyeksikan tetap menjadi ancaman kesehatan masyarakat apabila pengendalian infeksi, penggunaan antibiotik rasional, serta pencarian agen antimikroba baru tidak diperkuat [1], [2].

Dua bakteri yang sering dikaitkan dengan infeksi pada manusia adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [3], [4]. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat berkolonisasi pada kulit dan mukosa serta menyebabkan berbagai infeksi kulit dan jaringan lunak [3]. Sementara itu, *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang secara normal dapat hidup sebagai flora komensal di saluran gastrointestinal, tetapi strain tertentu dapat menjadi patogen melalui faktor virulensi yang menyebabkan infeksi intestinal maupun ekstraintestinal [4]. Perbedaan struktur dinding sel antara bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat memengaruhi respons bakteri terhadap senyawa antibakteri,

sehingga pengujian terhadap kedua jenis bakteri tersebut penting untuk menggambarkan spektrum awal aktivitas suatu bahan uji [3], [4].

Eksplorasi bahan alam sebagai sumber antibakteri alternatif semakin banyak dikembangkan karena tanaman mengandung metabolit sekunder yang berpotensi menghambat pertumbuhan mikroorganisme [5], [6]. Senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenolik, dan terpenoid dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri melalui berbagai mekanisme, seperti merusak permeabilitas membran, mengganggu dinding sel, menghambat enzim bakteri, mengganggu sintesis protein, serta menekan pembentukan biofilm [5]–[9]. Efektivitas ekstrak tanaman juga dipengaruhi oleh spesies tanaman, bagian tanaman yang digunakan, jenis pelarut, konsentrasi ekstrak, komposisi fitokimia, serta metode uji antibakteri yang diterapkan [5], [10], [11]. Oleh karena itu, pengujian aktivitas antibakteri berbasis bahan alam perlu dilakukan secara sistematis dan terstandar agar hasilnya dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah [10], [12].

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman tropis yang banyak dikaji karena mengandung senyawa bioaktif dan memiliki berbagai aktivitas farmakologis [13], [14]. Kajian farmakologi menunjukkan bahwa *A. muricata* berpotensi memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, antikanker, dan antibakteri [13]. Daun *A. muricata* juga dilaporkan mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan metabolit lain yang mendukung aktivitas biologis tanaman tersebut [14]. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *A. muricata* dapat memodulasi aktivitas antibiotik terhadap methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* serta memiliki aktivitas antimikroba pada bentuk ekstrak maupun oleoresin daun [15], [16]. Penelitian lain juga melaporkan potensi ekstrak *A. muricata* terhadap isolat *S. aureus*, bakteri multidrug-resistant, serta aktivitas antibakteri dari senyawa asetogenin yang berasal dari bagian tanaman *A. muricata* [17]–[19]. Selain itu, pengembangan metode ekstraksi hijau dan pendekatan nanomaterial berbasis *Annona* menunjukkan bahwa tanaman ini masih memiliki peluang besar untuk dikembangkan sebagai sumber bahan aktif antimikroba [20], [21].

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) juga berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif. Bagian kulit buah naga sering dianggap sebagai limbah, padahal mengandung metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, dan senyawa antioksidan yang dapat dimanfaatkan untuk pengembangan produk berbasis bahan alam [22]–[25]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi ekstrak etanol kulit *H. polyrhizus* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* [22]. Studi terbaru juga melaporkan bahwa ekstrak hidroetanol kulit *H. polyrhizus* memiliki kandungan fenolik dan menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *E. coli* dan *S. aureus* [23]. Selain itu, pemanfaatan ekstrak buah naga merah dalam sintesis nanopartikel tembaga menunjukkan aktivitas antibakteri yang relevan untuk aplikasi disinfektan cair [24]. Temuan lain mengenai sifat antioksidan dan fotoprotektif kulit *H. polyrhizus* juga memperkuat bahwa bagian limbah ini memiliki nilai biologis dan potensi pengembangan dalam produk farmasi maupun kosmetik [25].

Meskipun aktivitas antibakteri daun sirsak dan kulit buah naga merah telah banyak dikaji secara terpisah, kajian mengenai kombinasi kedua ekstrak tersebut masih terbatas. Kombinasi dua bahan alam tidak selalu menghasilkan peningkatan aktivitas antibakteri karena interaksi senyawa aktif dapat bersifat sinergis, aditif, antagonis, atau menunjukkan aktivitas yang rendah [5], [6], [10]. Oleh sebab itu, evaluasi kombinasi ekstrak perlu dilakukan melalui variasi perbandingan tertentu untuk mengetahui apakah penggunaan kedua ekstrak secara bersamaan dapat menghasilkan daya hambat yang lebih baik terhadap bakteri uji. Celah penelitian ini penting karena kajian kombinasi ekstrak *A. muricata* dan *H. polyrhizus* terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif masih belum banyak dilaporkan secara spesifik.

Penelitian ini menguji kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi cakram, yaitu metode yang banyak digunakan untuk skrining awal aktivitas antibakteri melalui pengukuran diameter zona hambat di sekitar cakram uji [12]. Variasi perbandingan ekstrak yang digunakan meliputi 0,05:2,95; 0,10:2,90; 0,15:2,85; 0,20:2,80; dan 0,25:2,75. Kebaruan penelitian ini terletak pada evaluasi kombinasi dua sumber bahan alam lokal, yaitu daun sirsak dan kulit buah naga merah, sebagai kandidat antibakteri terhadap dua bakteri dengan karakteristik Gram yang berbeda. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirsak dan kulit buah naga merah terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, serta menentukan variasi kombinasi ekstrak yang menghasilkan diameter zona hambat terbaik.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design* untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram pada media Nutrient Agar, karena metode ini umum digunakan sebagai skrining awal untuk menilai kemampuan bahan uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui pengukuran diameter zona hambat [5], [12], [2]. Perlakuan terdiri atas lima variasi perbandingan ekstrak daun sirsak dan kulit buah naga merah, yaitu 0,05:2,95; 0,10:2,90; 0,15:2,85; 0,20:2,80; dan 0,25:2,75, dengan amoksisilin sebagai kontrol positif dan akuades steril sebagai kontrol negatif. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi kombinasi ekstrak, sedangkan variabel terikat adalah diameter zona hambat yang diukur dalam satuan milimeter. Hasil pengukuran digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri antarperlakuan serta menentukan variasi kombinasi ekstrak yang menghasilkan daya hambat terbesar terhadap bakteri uji.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai bahan utama pembuatan ekstrak. Bahan lain yang digunakan meliputi etanol 70% sebagai pelarut ekstraksi, Nutrient Agar sebagai media pertumbuhan bakteri, NaCl 0,9% untuk pembuatan suspensi bakteri, amoksisilin sebagai kontrol positif, akuades steril sebagai kontrol negatif, serta kultur bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sebagai mikroorganisme uji. Peralatan penelitian meliputi autoklaf, inkubator, hotplate, rotary vacuum evaporator, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, jarum ose, kawat ose, pinset, kertas cakram, kertas saring, dan jangka sorong. Seluruh bahan dan alat digunakan untuk mendukung tahapan ekstraksi, sterilisasi, peremajaan bakteri, pengujian aktivitas antibakteri, serta pengukuran diameter zona hambat.

Formulasi Lotion Kombinasi EDS dan EKBN

Sediaan lotion dibuat dalam lima formula dengan variasi perbandingan ekstrak daun sirsak (EDS) dan ekstrak kulit buah naga merah (EKBN). Komponen basis lotion dibuat dengan mempertahankan jumlah bahan tambahan yang sama pada setiap formula, sedangkan konsentrasi EDS dan EKBN divariasikan untuk memperoleh perbandingan kombinasi yang berbeda. Basis lotion terdiri atas asam stearat, Na-CMC, parafin cair, gliserin, trietanolamin, asam benzoat, alkohol, pewangi, dan akuades. Formula F1 sampai F5 disusun dengan peningkatan jumlah EDS secara bertahap, yaitu 0,05 mg hingga 0,25 mg, sedangkan jumlah EKBN diturunkan dari 2,95 mg hingga 2,75 mg. Setiap formula dibuat hingga volume akhir 100 mL.

Tabel 1. Formulasi Lotion Kombinasi EDS dan EKBN

Bahan	Satuan	F1	F2	F3	F4	F5
EDS	mg	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25
EKBN	mg	2,95	2,90	2,85	2,80	2,75
Asam stearat	g	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Na-CMC	g	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Parafin cair	mL	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Gliserin	mL	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Trietanolamin	mL	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Asam benzoat	g	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

Alkohol	mL	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Pewangi	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
Akuades	ad	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL

Keterangan: q.s. = *quantum satis*; ad = ditambahkan hingga volume akhir 100 mL.

Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak dan Kulit Buah Naga

Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diperoleh melalui metode maserasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Daun sirsak terlebih dahulu disortasi, dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringanginkan hingga menjadi simplisia kering. Simplisia tersebut direndam dalam etanol 70% pada wadah tertutup dan diaduk secara berkala agar proses penarikan senyawa bioaktif berlangsung lebih optimal. Pada sampel kulit buah naga merah, kulit buah dipisahkan dari daging buah, disortasi, dicuci, dirajang, lalu dihaluskan sebelum dimaserasi dengan etanol 70% dalam wadah tertutup yang terlindung dari cahaya. Maserasi dipilih karena metode ini banyak digunakan untuk mengekstraksi metabolit sekunder dari bahan alam dengan prosedur yang relatif sederhana dan tidak memerlukan pemanasan tinggi [5], [14]. Setelah proses perendaman selesai, masing-masing campuran disaring untuk memisahkan ampas dan filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga menghasilkan ekstrak kental daun sirsak dan ekstrak kental kulit buah naga merah. Kedua ekstrak kental tersebut selanjutnya digunakan sebagai bahan aktif dalam formulasi kombinasi ekstrak dan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Pembuatan Media, Suspensi Bakteri, dan Kontrol Uji

Media Nutrient Agar (NA) disiapkan dengan melarutkan 6,72 g serbuk NA ke dalam 240 mL akuades, kemudian dipanaskan menggunakan *hotplate* hingga larutan homogen. Wadah media ditutup dengan kapas berlapis aluminium foil, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah suhu media menurun sekitar 40–45°C, media dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Untuk media agar miring, sebanyak 20 mL media NA steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diletakkan pada posisi miring sekitar 30–40° hingga mengeras. Media agar miring digunakan untuk pemeliharaan dan peremajaan kultur bakteri sebelum pengujian antibakteri. Penggunaan media steril dan kondisi aseptik penting untuk menjaga validitas hasil uji antimikroba serta mencegah kontaminasi selama proses pengujian [5], [12].

Suspensi bakteri dibuat dari biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang telah diremajakan. Masing-masing isolat diambil secara aseptis menggunakan ose steril, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 mL NaCl 0,9% steril dan dihomogenkan hingga kekeruhannya setara dengan standar McFarland. Standardisasi suspensi diperlukan agar jumlah inokulum yang digunakan relatif seragam, sehingga hasil pengukuran zona hambat dapat dibandingkan antarperlakuan [5]. Kontrol positif dibuat dari amoksisilin 500 mg yang digerus, kemudian ditimbang sebanyak 0,05 g dan dilarutkan dalam 10 mL akuades steril. Kontrol negatif menggunakan akuades steril tanpa penambahan senyawa antibakteri. Kontrol positif digunakan sebagai pembanding aktivitas antibakteri standar, sedangkan kontrol negatif digunakan untuk memastikan bahwa pelarut tidak memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri [12].

Uji Antimikroba dan Analisis Data

Uji antimikroba dilakukan dengan metode difusi cakram pada media Nutrient Agar yang telah diinokulasi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kertas cakram steril direndam dalam setiap variasi kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), kemudian diletakkan secara aseptis pada permukaan media yang telah berisi bakteri uji. Metode difusi cakram digunakan sebagai skrining awal aktivitas antibakteri karena zona bening yang terbentuk di sekitar cakram dapat menggambarkan kemampuan bahan uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri [5], [12]. Perlakuan terdiri atas lima variasi perbandingan ekstrak,

yaitu 0,05:2,95; 0,10:2,90; 0,15:2,85; 0,20:2,80; dan 0,25:2,75. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan akuades steril digunakan sebagai kontrol negatif. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, zona bening yang terbentuk diamati dan diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter. Nilai diameter zona hambat kemudian dihitung reratanya untuk membandingkan aktivitas antibakteri antarperlakuan. Prosedur teknis ini disesuaikan dengan metode pada naskah penelitian utama

Data hasil pengukuran zona hambat dianalisis secara deskriptif dan inferensial. Analisis deskriptif digunakan untuk menyajikan rerata diameter zona hambat serta mengelompokkan kekuatan aktivitas antibakteri berdasarkan kategori respons hambatan. Selanjutnya, perbedaan rerata zona hambat antarvariasi kombinasi ekstrak dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna antarperlakuan. ANOVA digunakan untuk membandingkan rerata lebih dari dua kelompok pada data kuantitatif, dengan memperhatikan asumsi normalitas, independensi, dan homogenitas varians [26]. Apabila hasil uji menunjukkan perbedaan signifikan, analisis dapat dilanjutkan dengan uji lanjut untuk mengidentifikasi kelompok perlakuan yang berbeda secara nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Daun Sirsak dan Kulit Buah Naga Merah

Ekstraksi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) menghasilkan ekstrak kental dengan jumlah yang berbeda. Berdasarkan data penelitian Sri Zuwinda Zusya Pane, sebanyak 3 kg daun sirsak segar menghasilkan 500 g simplisia kering, kemudian setelah proses maserasi menggunakan etanol 70% dan pemekatan dengan rotary evaporator diperoleh ekstrak kental sebanyak 14,25 g. Sementara itu, kulit buah naga merah sebanyak 5 kg menghasilkan 500 g simplisia kering dan setelah proses yang sama menghasilkan ekstrak kental sebanyak 28,59 g. Dengan demikian, rendemen ekstrak daun sirsak sebesar 2,85%, sedangkan rendemen ekstrak kulit buah naga merah sebesar 5,72%.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun sirsak dan kulit buah naga merah

Sampel	Bahan Segar (kg)	Berat Simplisia (g)	Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Daun sirsak	3,0	500,0	14,25	2,85
Kulit buah naga merah	5,0	500,0	28,59	5,72

Rendemen kulit buah naga merah yang lebih tinggi menunjukkan bahwa komponen yang dapat larut dalam etanol 70% lebih banyak diperoleh dari bagian kulit buah dibandingkan daun sirsak. Perbedaan ini dapat dipengaruhi oleh karakteristik jaringan tanaman, kadar air awal, komposisi metabolit sekunder, serta efisiensi pelarut dalam menarik senyawa aktif. Namun, rendemen yang tinggi tidak selalu identik dengan aktivitas antibakteri yang lebih kuat. Dalam pengujian antibakteri berbasis ekstrak tanaman, efektivitas biologis lebih ditentukan oleh jenis senyawa aktif, konsentrasi senyawa, stabilitas, kemampuan pelepasan dari matriks sediaan, dan kemampuan senyawa berdifusi pada media uji [5], [10], [12].

Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut memiliki dasar ilmiah karena pelarut hidroetanol mampu mengekstraksi senyawa polar hingga semipolar, seperti flavonoid, fenolik, tanin, alkaloid, dan saponin. Kelompok metabolit tersebut banyak dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri melalui gangguan permeabilitas membran, kerusakan dinding sel, penghambatan enzim, gangguan sintesis protein, serta penurunan kemampuan bakteri membentuk biofilm [6]–[9]. Oleh karena itu, ekstrak daun sirsak dan kulit buah naga merah secara teoritis memiliki dasar untuk dikaji sebagai kandidat antibakteri berbasis bahan alam.

Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa seluruh formula kombinasi ekstrak daun sirsak dan kulit buah naga merah menghasilkan zona hambat kategori

lemah. Formula F1 dengan perbandingan EDS:EKBN 0,05:2,95 menghasilkan rerata zona hambat tertinggi, yaitu $3,18 \pm 0,03$ mm. Formula F4 dengan perbandingan 0,20:2,80 menghasilkan zona hambat terendah, yaitu $1,08 \pm 0,09$ mm. Kontrol positif amoksisilin menghasilkan zona hambat $13,13 \pm 0,15$ mm, sedangkan kontrol negatif akuades tidak menghasilkan zona hambat.

Tabel 2. Diameter zona hambat kombinasi EDS dan EKBN terhadap *Staphylococcus aureus*

Formula	Perbandingan EDS:EKBN	Rerata zona hambat (mm)	Kategori
F1	0,05:2,95	$3,18 \pm 0,03$	Lemah
F2	0,10:2,90	$1,46 \pm 0,12$	Lemah
F3	0,15:2,85	$1,95 \pm 0,21$	Lemah
F4	0,20:2,80	$1,08 \pm 0,09$	Lemah
F5	0,25:2,75	$1,90 \pm 0,23$	Lemah
Kontrol positif	Amoksisilin	$13,13 \pm 0,15$	Kuat
Kontrol negatif	Akuades	-	Tidak ada hambatan

Keterangan: n = 3 kali, - : tidak ada respon

Rendahnya zona hambat pada seluruh formula menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak belum memberikan aktivitas antibakteri yang optimal terhadap *S. aureus*. Secara mikrobiologis, *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang sering dikaitkan dengan infeksi kulit dan jaringan lunak [3]. Walaupun bakteri Gram positif tidak memiliki membran luar seperti bakteri Gram negatif, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dinding sel *S. aureus* tetap tidak cukup sensitif terhadap formula kombinasi ekstrak pada konsentrasi yang digunakan. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak tanaman tidak hanya bergantung pada tipe Gram bakteri, tetapi juga pada kadar senyawa aktif, kelarutan, stabilitas, ukuran molekul, dan kemampuan senyawa untuk berdifusi dalam media agar [5], [10], [12].

Pola hasil juga menunjukkan bahwa peningkatan proporsi ekstrak daun sirsak tidak selalu meningkatkan diameter zona hambat. Formula F1 yang memiliki proporsi ekstrak daun sirsak paling rendah justru menghasilkan zona hambat terbesar terhadap *S. aureus*. Sebaliknya, formula F5 yang mengandung proporsi ekstrak daun sirsak lebih tinggi tidak menunjukkan peningkatan aktivitas yang sebanding. Pola ini memperlihatkan bahwa kombinasi dua ekstrak tanaman tidak otomatis menghasilkan efek sinergis. Interaksi antar metabolit sekunder dapat bersifat sinergis, aditif, netral, atau antagonis, bergantung pada komposisi senyawa dan mekanisme kerja masing-masing komponen [5], [6], [10].

Jika dibandingkan dengan kontrol positif, seluruh formula memiliki aktivitas yang jauh lebih rendah. Amoksisilin menghasilkan zona hambat $13,13 \pm 0,15$ mm, sedangkan zona hambat tertinggi dari kombinasi ekstrak hanya $3,18 \pm 0,03$ mm. Perbedaan ini mempertegas bahwa formula kombinasi ekstrak belum dapat dikategorikan sebagai antibakteri kuat terhadap *S. aureus*. Dengan demikian, hasil terhadap *S. aureus* lebih tepat diinterpretasikan sebagai indikasi aktivitas antibakteri lemah, bukan sebagai bukti efektivitas farmakologis yang kuat.

Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

Pengujian terhadap *Escherichia coli* menunjukkan hasil yang lebih bervariasi dibandingkan *S. aureus*. Formula F5 dengan perbandingan EDS:EKBN 0,25:2,75 menghasilkan zona hambat dengan kategori sedang. Empat formula lainnya masih berada pada kategori lemah, yaitu F1- F4. Kontrol positif amoksisilin menghasilkan zona hambat $13,13 \pm 0,15$ mm, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan hambatan.

Tabel 3. Diameter zona hambat kombinasi EDS dan EKBN terhadap *Escherichia coli*

Formula	Perbandingan EDS:EKBN	Rerata zona hambat (mm)	Kategori
F1	0,05:2,95	3,25±0,12	Lemah
F2	0,10:2,90	1,11±0,18	Lemah
F3	0,15:2,85	1,41±0,25	Lemah
F4	0,20:2,80	0,68±0,16	Lemah
F5	0,25:2,75	5,18±0,09	Sedang
Kontrol positif	Amoksisilin	13,13±0,15	Kuat
Kontrol negatif	Akuades	-	Tidak ada hambatan

Keterangan: n = 3 kali, - : tidak ada respon

Formula F5 menjadi formula dengan aktivitas terbaik terhadap *E. coli*. Temuan ini mengindikasikan bahwa peningkatan proporsi ekstrak daun sirsak hingga 0,25 mg dalam kombinasi dengan ekstrak kulit buah naga merah 2,75 mg mampu menghasilkan respons hambatan yang lebih baik dibandingkan formula lain. Daun sirsak diketahui memiliki aktivitas farmakologis yang luas dan mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri [13], [14]. Beberapa studi juga melaporkan aktivitas *Annona muricata* terhadap bakteri patogen, termasuk *S. aureus*, MRSA, dan bakteri multidrug-resistant tertentu [15]–[19]. Di sisi lain, kulit buah naga merah juga dilaporkan mengandung senyawa fenolik dan flavonoid serta menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* [22]–[25].

Meskipun formula F5 menunjukkan hasil terbaik, aktivitasnya masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif. Zona hambat F5 hanya sebesar 5,18±0,09 mm, sedangkan amoksisilin mencapai 13,13±0,15 mm. Dengan demikian, formula F5 belum dapat diposisikan sebagai antibakteri kuat, melainkan sebagai formula yang memiliki aktivitas awal dan layak dikembangkan lebih lanjut. Dalam konteks penelitian bahan alam, hasil kategori sedang dapat menjadi dasar eksplorasi lanjutan, tetapi belum cukup untuk menyimpulkan efektivitas terapeutik tanpa uji tambahan seperti *Minimum Inhibitory Concentration*, *Minimum Bactericidal Concentration*, dan uji kombinasi berbasis *Fractional Inhibitory Concentration Index* [10], [12].

Secara teoritis, *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki membran luar dengan kandungan lipopolisakarida. Struktur tersebut dapat menghambat penetrasi senyawa antibakteri tertentu, sehingga bakteri Gram negatif sering kali lebih sulit dihambat dibandingkan bakteri Gram positif [4], [12]. Namun, pada penelitian ini formula F5 justru menunjukkan zona hambat lebih tinggi terhadap *E. coli* dibandingkan *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa respons bakteri terhadap ekstrak tanaman tidak dapat dijelaskan hanya berdasarkan klasifikasi Gram, tetapi juga harus memperhatikan karakteristik strain, komposisi senyawa aktif, kelarutan, afinitas senyawa terhadap target seluler, serta kemampuan difusi pada media agar [5], [10].

Perbandingan Aktivitas Antibakteri terhadap Kedua Bakteri Uji

Secara keseluruhan, kombinasi ekstrak daun sirsak dan kulit buah naga merah menunjukkan aktivitas antibakteri yang masih terbatas. Pada *S. aureus*, seluruh formula berada pada kategori lemah dengan rentang zona hambat 1,08–3,18 mm. Pada *E. coli*, empat formula berada pada kategori lemah dan satu formula berada pada kategori sedang, dengan rentang zona hambat 0,68–5,18 mm. Data skripsi juga menyimpulkan bahwa aktivitas kombinasi ekstrak terhadap *S. aureus* tergolong sangat rendah, sedangkan terhadap *E. coli* terdapat empat formula kategori lemah dan satu formula kategori sedang.

Hasil ini belum mendukung klaim sinergisme kuat antara ekstrak daun sirsak dan kulit buah naga merah. Suatu kombinasi bahan alam seharusnya dinyatakan sinergis apabila gabungan dua ekstrak

menghasilkan efek hambatan yang lebih besar secara konsisten dibandingkan ekstrak tunggal atau dibandingkan kontrol perlakuan lain. Pada penelitian ini, zona hambat antarformula berfluktuasi dan sebagian besar masih berada dalam kategori lemah. Oleh karena itu, istilah yang lebih tepat digunakan adalah “aktivitas antibakteri terbatas” atau “belum menunjukkan sinergisme kuat”, bukan “terbukti sinergis”. Kesimpulan dalam skripsi juga menyatakan bahwa kombinasi ekstrak tidak sinergis karena aktivitas antibakteri berbeda pada setiap variasi dan mayoritas hasilnya berada pada kategori lemah.

Rendahnya aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Pertama, konsentrasi ekstrak dalam formula kemungkinan belum cukup tinggi untuk menghasilkan hambatan yang luas. Kedua, senyawa aktif mungkin tidak berdifusi secara optimal pada media Nutrient Agar. Ketiga, penggunaan basis lotion dapat membatasi pelepasan senyawa aktif dari matriks sediaan menuju media uji. Keempat, kombinasi senyawa dari dua ekstrak dapat menghasilkan interaksi yang tidak selalu meningkatkan aktivitas antibakteri. Dalam metode difusi cakram, diameter zona hambat sangat dipengaruhi oleh ukuran molekul, polaritas, kelarutan, stabilitas, serta kemampuan zat aktif bermigrasi dari cakram ke media agar [10], [12].

Temuan ini tetap memiliki nilai ilmiah karena menunjukkan adanya perbedaan respons antara *S. aureus* dan *E. coli*. Formula F5 dapat dijadikan kandidat awal untuk optimasi lanjutan terhadap *E. coli*. Namun, pengembangan berikutnya perlu menggunakan rancangan yang lebih kuat, termasuk perbandingan ekstrak tunggal dan kombinasi, peningkatan konsentrasi, standarisasi kadar senyawa aktif, uji MIC, uji MBC, dan uji FICI. Pendekatan ini penting agar klaim aktivitas antibakteri dan sinergisme tidak hanya didasarkan pada zona hambat, tetapi juga pada parameter kuantitatif yang lebih dapat dipertanggungjawabkan [10], [12], [26].

Implikasi Ilmiah dan Keterbatasan Penelitian

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa kombinasi ekstrak daun sirsak dan kulit buah naga merah memiliki aktivitas antibakteri, tetapi aktivitas tersebut belum cukup kuat untuk mendukung klaim sebagai kandidat antibakteri utama. Implikasi penting dari temuan ini adalah perlunya optimasi formula, terutama pada perbandingan F5 yang menunjukkan aktivitas terbaik terhadap *E. coli*. Optimasi dapat dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi ekstrak, memperbaiki sistem penghantaran zat aktif, atau menggunakan bentuk sediaan yang memungkinkan pelepasan senyawa antibakteri lebih baik.

Keterbatasan utama penelitian ini adalah data yang tersedia masih berupa rerata diameter zona hambat, sehingga analisis statistik yang lebih lengkap belum dapat disajikan secara kuat. Untuk standar artikel Sinta 2, idealnya hasil dilaporkan dalam bentuk rerata \pm standar deviasi, disertai jumlah replikasi, uji normalitas, uji homogenitas, uji ANOVA atau Kruskal-Wallis, dan uji lanjut apabila terdapat perbedaan signifikan. Selain itu, metode difusi cakram hanya tepat digunakan sebagai skrining awal, sehingga belum cukup untuk menyimpulkan efek bakterisidal atau sinergisme kombinasi ekstrak [12], [26].

KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, tetapi aktivitas yang dihasilkan masih rendah. Pada *S. aureus*, seluruh formula menghasilkan zona hambat kategori lemah dengan rentang 1,08–3,18 mm. Formula terbaik terhadap *S. aureus* adalah F1 dengan perbandingan EDS:EKBN 0,05:2,95 dan rerata zona hambat $3,18 \pm 0,03$ mm.

Pada *E. coli*, empat formula berada pada kategori lemah, sedangkan formula F5 dengan perbandingan EDS:EKBN 0,25:2,75 menghasilkan zona hambat dan termasuk kategori sedang. Formula F5 merupakan formula terbaik dalam penelitian ini, khususnya terhadap *E. coli*. Namun, aktivitas tersebut masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif amoksisilin yang menghasilkan zona hambat $13,13 \pm 0,15$ mm.

Berdasarkan pola zona hambat yang tidak konsisten dan mayoritas hasil yang masih berada pada kategori lemah, kombinasi ekstrak daun sirsak dan kulit buah naga merah belum dapat dinyatakan memiliki efek sinergis yang kuat. Penelitian lanjutan perlu dilakukan melalui peningkatan konsentrasi, perbandingan ekstrak tunggal dan kombinasi, standarisasi senyawa aktif, uji MIC, uji MBC, serta uji

FICI agar potensi antibakteri kombinasi ekstrak dapat dinilai secara lebih komprehensif dan sesuai dengan standar publikasi artikel ilmiah bereputasi.

REFERENSI

- [1] C. J. L. Murray *et al.*, “Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis,” *Lancet*, vol. 399, no. 10325, pp. 629–655, 2022, doi: [10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).
- [2] M. Naghavi *et al.*, “Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance 1990–2021: A Systematic Analysis with Forecasts to 2050,” *Lancet*, vol. 404, no. 10459, pp. 1199–1226, 2024, doi: [10.1016/S0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1).
- [3] T. J. Hatlen and L. G. Miller, “Staphylococcal Skin and Soft Tissue Infections,” *Infect. Dis. Clin.*, vol. 35, no. 1, pp. 81–105, 2021, doi: [10.1016/j.idc.2020.10.003](https://doi.org/10.1016/j.idc.2020.10.003).
- [4] B. Pakbin, W. M. Brück, and J. W. A. Rossen, “Virulence Factors of Enteric Pathogenic Escherichia coli: A Review,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 18, p. 9922, 2021, doi: [10.3390/ijms22189922](https://doi.org/10.3390/ijms22189922).
- [5] N. Vaou, E. Stavropoulou, C. Voidarou, C. Tsigalou, and E. Bezirtzoglou, “Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives,” *Microorganisms*, vol. 9, no. 10, p. 2041, 2021, doi: [10.3390/microorganisms9102041](https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041).
- [6] N. Jubair, M. Rajagopal, S. Chinnappan, N. B. Abdullah, and A. Fatima, “Review on the Antibacterial Mechanism of Plant-Derived Compounds against Multidrug-Resistant Bacteria (MDR),” *Evidence-Based Complement. Altern. Med.*, vol. 2021, no. 1, p. 3663315, 2021, doi: [10.1155/2021/3663315](https://doi.org/10.1155/2021/3663315).
- [7] E. Hochma, L. Yarmolinsky, B. Khalfin, M. Nisnevitch, S. Ben-Shabat, and F. Nakonechny, “Antimicrobial Effect of Phytochemicals from Edible Plants,” *Processes*, vol. 9, no. 11, p. 2089, 2021, doi: [10.3390/pr911208](https://doi.org/10.3390/pr911208).
- [8] N. F. Shamsudin *et al.*, “Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation,” *Molecules*, vol. 27, no. 4, p. 1149, 2022, doi: [10.3390/molecules27041149](https://doi.org/10.3390/molecules27041149).
- [9] A. H. Elmaidomy *et al.*, “Antimicrobial Potentials of Natural Products Against Multidrug Resistance Pathogens: A Comprehensive Review,” *RSC Adv.*, vol. 12, no. 45, pp. 29078–29102, 2022, doi: [10.1039/D2RA04884A](https://doi.org/10.1039/D2RA04884A).
- [10] N. Zouine, N. El Ghachtouli, S. El Abed, and S. I. Koraichi, “A Comprehensive Review on Medicinal Plant Extracts as Antibacterial Agents: Factors, Mechanism Insights and Future Prospects,” *Sci. African*, vol. 26, p. e02395, 2024, doi: [10.1016/j.sciaf.2024.e02395](https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02395).
- [11] S. Alinaghi *et al.*, “A Systematic Review on Natural Products with Antimicrobial Potential Against WHO’s Priority Pathogens,” *Eur. J. Med. Res.*, vol. 30, no. 1, p. 525, 2025, doi: [10.1186/s40001-025-02717-x](https://doi.org/10.1186/s40001-025-02717-x).
- [12] I. Gajic *et al.*, “Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Rurrently Used Methods,” *Antibiotics*, vol. 11, no. 4, p. 427, 2022, doi: [10.3390/antibiotics11040427](https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427).
- [13] M. Mutakin, R. Fauziati, F. N. Fadhillah, A. Zuhrotun, R. Amalia, and Y. E. Hadisaputri, “Pharmacological Activities of Soursop (*Annona muricata* Lin.),” *Molecules*, vol. 27, no. 4, p. 1201, 2022, doi: [10.3390/molecules27041201](https://doi.org/10.3390/molecules27041201).
- [14] Y. Nolasco-González *et al.*, “*Annona muricata* Leaves as A Source of Bioactive Compounds: Extraction and Quantification Using Ultrasound,” *Horticulturae*, vol. 8, no. 7, p. 560, 2022, doi: [10.3390/horticulturae8070560](https://doi.org/10.3390/horticulturae8070560).
- [15] D. Neglo *et al.*, “Evaluation of the Modulatory Effect of *Annona muricata* Extracts on the Activity of Some Selected Antibiotics against Biofilm-Forming MRSA,” *Evidence-Based Complement. Altern. Med.*, vol. 2021, no. 1, p. 9342110, 2021, doi: [10.1155/2021/9342110](https://doi.org/10.1155/2021/9342110).
- [16] C. Z. Cagnini *et al.*, “Antimicrobial Activity of *Annona muricata* Leaf Oleoresin,” *Nat. Prod. Res.*, vol. 36, no. 18, pp. 4781–4787, 2021, doi: [10.1080/14786419.2021.2011270](https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2011270).
- [17] U. O. Edet *et al.*, “Evaluation of *Annona muricata* Extract Against *Staphylococcus aureus* Isolate and In-silico Activity of Bioactive Compounds Against Capsular Protein (Cap5O),” *BMC Complement. Med. Ther.*, vol. 22, no. 1, p. 192, 2022, doi: [10.1186/s12906-022-03672-4](https://doi.org/10.1186/s12906-022-03672-4).

- [18] M. N. Ngemenya, R. Asongana, D. Zofou, R. A. Ndip, L. O. Itoe, and S. B. Babiaka, "In Vitro Antibacterial Potential against Multidrug-Resistant Salmonella, Cytotoxicity, and Acute Biochemical Effects in Mice of *Annona muricata* Leaf Extracts," *Evidence-Based Complement. Altern. Med.*, vol. 2022, no. 1, p. 3144684, 2022, doi: [10.1155/2022/3144684](https://doi.org/10.1155/2022/3144684).
- [19] G. Aguilar-Hernández *et al.*, "Antibacterial Activity of Crude Extract and Purified Acetogenins from *Annona muricata* Seeds," *Appl. Sci.*, vol. 13, no. 1, p. 558, 2022, doi: [10.3390/app13010558](https://doi.org/10.3390/app13010558).
- [20] L. F. Oton, P. R. V Ribeiro, E. S. de Brito, and R. S. de Santiago-Aguiar, "Sustainable Extraction of Bioactive Compounds from *Annona muricata* L. Leaves by Deep Eutectic Solvents (DESs)," *ACS omega*, vol. 10, no. 16, pp. 16909–16920, 2025, doi: [10.1021/acsomega.5c01232](https://doi.org/10.1021/acsomega.5c01232).
- [21] Y. Gutiérrez-Pinzón *et al.*, "Antimicrobial Potential of Nanomaterials Synthesized with Extracts from *Annona* Plants: A review," *Antibiotics*, vol. 14, no. 8, p. 748, 2025, doi: [10.3390/antibiotics14080748](https://doi.org/10.3390/antibiotics14080748).
- [22] T. K. Khotimah, A. Krisridwany, S. Orbayinah, and S. Harimurti, "Antibacterial Activity of Fractions from Extract Ethanolic of *Hylocereus polyrhizus* Peel Against *E. Coli* and *S. aureus*," *J. Fundam. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 1, no. 2, pp. 65–71, 2021, doi: [10.18196/jfaps.v1i2.11001](https://doi.org/10.18196/jfaps.v1i2.11001).
- [23] J. P. Pagnossa *et al.*, "Antioxidant and Antimicrobial Effects of Pitaya peels (*Hylocereus polyrhizus*) Hydroethanolic Extracts: Biological Correlations Assessment," *Next Res.*, vol. 2, no. 4, p. 100896, 2025, doi: [10.1016/j.nexres.2025.100896](https://doi.org/10.1016/j.nexres.2025.100896).
- [24] C. A. Haruna, W. A. Malik, M. Y. S. Rijal, A. H. Watoni, and L. Ramadhan, "Green Synthesis of Copper Nanoparticles Using Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Extract and Its Antibacterial Activity for Liquid Disinfectant," *J. Kim. Sains dan Apl.*, vol. 25, no. 10, pp. 352–361, 2022, doi: [10.14710/jksa.25.10.352-361](https://doi.org/10.14710/jksa.25.10.352-361).
- [25] R. Vijayakumar, S. S. Abd Gani, U. H. Zaidan, M. I. E. Halmi, T. Karunakaran, and M. R. Hamdan, "Exploring The Potential Use of *Hylocereus polyrhizus* Peels as a Source of Cosmeceutical Sunscreen Agent for Its Antioxidant and Photoprotective Properties," *Evidence-Based Complement. Altern. Med.*, vol. 2020, no. 1, p. 7520736, 2020, doi: [10.1155/2020/7520736](https://doi.org/10.1155/2020/7520736).
- [26] P. Mishra, C. M. Pandey, U. Singh, A. Keshri, and M. Sabaretnam, "Selection of Appropriate Statistical Methods for Data Analysis," *Ann. Aardiac Anaesth.*, vol. 22, no. 3, pp. 297–301, 2019.