

Original Research Paper

Antibacterial Effectiveness of A Combination of Binahong (*Anredera cordifolia*) and Soursop (*Annona muricata*) Leaf Extract on The Growth of *Escherichia coli* in Vitro

Agna Shailla Monica Wiranty^{1*}, I Putu Dedy Arjita¹, Ety Retno Setyowati¹

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Al-Azhar, Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : January 15th, 2026

Revised : January 26th, 2026

Accepted : February 05th, 2026

*Corresponding Author: Agna Shailla Monica Wiranty, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Al-Azhar, Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;
Email:
agnashailla0107@gmail.com

Abstract: The high incidence of diarrhea and the increasing resistance of *Escherichia coli* to various first-line antibiotics has prompted the search for safer and more effective antibacterial alternatives. Herbal plants such as binahong leaves and soursop leaves are known to contain secondary metabolites with antibacterial potential. This study aims to determine the antibacterial effectiveness of a combination of binahong and soursop leaf extracts on the growth of *Escherichia coli* in vitro and to determine the most effective combination concentration. This study was a laboratory experimental study with a true experimental design, then tested against *Escherichia coli* using the agar diffusion method. Statistical analysis was performed using the Kruskal–Wallis test and continued with the Mann–Whitney test. The results showed that the combination of binahong and soursop leaf extracts was able to inhibit the growth of *Escherichia coli* at all concentrations tested. There was a statistically significant difference in the diameter of the inhibition zone between treatment groups ($p < 0.05$). The combination of extracts at a concentration of 50% showed more optimal inhibitory activity than other concentrations, which is thought to be influenced by the interaction of the active compounds in both extracts. In conclusion, the combination of binahong and soursop leaf extracts has antibacterial effectiveness against the growth of *Escherichia coli* in vitro and has the potential to be developed as a natural antibacterial alternative.

Keywords: Antibacterial, binahong leaves, *Escherichia coli*, in vitro, soursop leaves.

Pendahuluan

Infeksi saluran pencernaan merupakan masalah kesehatan global yang terus menjadi faktor signifikan dalam penyakit dan kematian, terutama di negara-negara dengan ekonomi berkembang. Salah satu patogen utama yang bertanggung jawab terhadap infeksi ini adalah *Escherichia coli*, khususnya strain patogen seperti *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), dan *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC). Strain ini dapat menyebabkan berbagai gangguan saluran pencernaan, mulai dari diare ringan hingga kolitis hemoragik dan sindrom uremik hemolitik.

Infeksi *E. coli* menyumbang angka kejadian tinggi pada gastroenteritis, dengan perkiraan mencapai jutaan kasus setiap tahunnya di seluruh dunia, terutama pada anak-anak usia di bawah lima tahun yang rentan terhadap dehidrasi dan komplikasi lainnya (Wang *et al.*, 2023).

Diare merupakan penyakit umum di Indonesia dan berpotensi menyebabkan wabah besar (KLB) serta dapat mengakibatkan kematian, khususnya di Nusa Tenggara Barat (NTB). Kejadian diare pada balita di Nusa Tenggara Barat masih dikatakan diatas nilai rata-rata nasional. Nusa Tenggara Barat menempati urutan keempat nasional dengan prevalensi penyakit diare sebesar 13,4%. Prevalensi diare

tertinggi didapatkan pada anak usia 12-23 bulan sebesar 17,52%, diikuti usia 24-35 bulan sebesar 16,02%, dan usia 0-11 bulan sebesar 14,05%. Total kasus diare di Kota Mataram pada tahun 2020 adalah sebanyak 2.683 kasus (Wirastri *et al.*, 2024).

Infeksi saluran pencernaan yang disebabkan oleh *Escherichia coli* terutama strain patogen *Enterotoxigenic E. coli* masih menjadi tantangan kesehatan global, khususnya di negara berkembang. Strain ETEC kini banyak ditemukan yang resisten terhadap antibiotik lini utama seperti *ciprofloxacin* dan *azithromycin*, bahkan telah muncul strain multi-drug resistant (MDR) (Morita *et al.*, 2025). Peningkatan resistensi ETEC dari pasien diare dan lingkungan, dengan prevalensi gen resistensi yang signifikan, mencerminkan transmisi silang antara manusia dan lingkungan. Menurut penelitian oleh Han *et al.*, 2024, memperlihatkan 68% isolat *E. coli* penyebab diare menunjukkan resistensi tinggi terhadap *ampisin*, dan >20% strain merupakan penghasil *extended-spectrum β-lactamase* (ESBL), yang membuat pengobatan menjadi semakin kompleks. Fenomena ini menuntut adopsi antibiogram sebelum terapi, serta pencarian alternatif terapi, termasuk potensi kombinasi ekstrak herbal sebagai agen anti-*E. coli* yang efektif dan aman.

Penggunaan tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan infeksi semakin diminati karena dianggap lebih aman, mengurangi efek samping, mudah diperoleh, dan lebih terjangkau dibandingkan obat kimia. Masyarakat Indonesia secara historis telah memanfaatkan tanaman obat tradisional untuk mengelola berbagai penyakit secara empiris, dan dengan meningkatnya kesadaran kesehatan, terdapat minat baru terhadap praktik-praktik ini (Kumontoy *et al.*, 2023). Penelitian ini berfokus pada dua tanaman herbal: daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun sirsak (*Annona muricata*). Tanaman-tanaman ini dikenal karena senyawa aktifnya seperti flavonoid, tanin, dan saponin, yang dapat membantu menghentikan perkembangan bakteri *Escherichia coli*. Kombinasi kedua tanaman ini diharapkan mampu memberikan efek sinergis sebagai antibakteri alami, sekaligus menjadi alternatif dalam menghadapi resistensi antibiotik yang semakin meningkat.

Ekstrak dari daun binahong menunjukkan peningkatan yang jelas dalam kekuatan

antibakterinya seiring dengan peningkatan konsentrasi, dengan pengukuran zona inhibisi terhadap *Escherichia coli* mencapai 11,86 mm pada konsentrasi 25%, 13,75 mm pada konsentrasi 50%, dan 15,41 mm pada konsentrasi 75% (Abima *et al.*, 2017). Sebuah studi yang dilakukan oleh Ionnandha *et al.*, (2023) mengungkapkan bahwa ekstrak etanol dari daun sirsak secara efektif mengurangi pertumbuhan *Escherichia coli*.

Sejalan dengan itu, temuan dari Komalasari *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun sirsak menunjukkan sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan sirsak (*Annona muricata*) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Sebagian besar penelitian sebelumnya hanya menggunakan ekstrak tunggal dari salah satu jenis daun tersebut, sementara studi mengenai efektivitas kombinasi kedua tanaman masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas kombinasi ekstrak daun binahong dan daun sirsak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan variasi konsentrasi dan uji *in vitro* menggunakan metode difusi cakram, sehingga penelitian ini diharapkan mengisi celah dari penelitian terdahulu.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Al-Azhar untuk melakukan ekstraksi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun sirsak (*Annona muricata*) sedangkan Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi untuk melakukan uji antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November-Desember 2025. Sampel penelitian yaitu bakteri *Escherichia coli* strain ATCC 25922 yang didapatkan dari Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Provinsi NTB.

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *True Experiment* dengan rancangan *post test* dengan kelompok kontrol (*post test only*

control group design) menggunakan metode difusi cakram untuk melihat efektivitas dari kombinasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk melihat pengaruh enam kelompok perlakuan yang terdiri atas kombinasi ekstrak daun binahong dan daun sirsak pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, selain itu terdapat pula dua kontrol yang terdiri dari kelompok kontrol positif dengan *ciprofloxacin* dan kelompok negatif dengan menggunakan *aquadest* steril. Menurut panduan *Clinical & Laboratory Standards Institute* (2024), kelompok positif untuk bakteri *Escherichia coli* akan menggunakan antibiotik *ciprofloxacin*.

Prosedur penelitian

Tahapan penelitian terdiri dari preparasi daun, Ekstraksi kombinasi daun binahong dan daun sirsak, sterilisasi alat, pembuatan suspensi bakteri, pembuatan media Mueller Hinton Agar (MHA), uji difusi cakram dan analisis GC-MS

Analisis data

Efektivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak daun binahong dan sirsak dinilai dengan mengevaluasi diameter zona inhibisi (mm) pada empat konsentrasi campuran ekstrak yang berbeda: 25%, 50%, 75%, dan 100%, dengan mempertahankan rasio 1:1 yang konsisten. Air suling steril digunakan sebagai kontrol negatif, sedangkan siprofloksasin digunakan sebagai kontrol positif.

Data diperiksa menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* dalam SPSS versi 22, dengan menerapkan ambang batas signifikansi $<0,05$ untuk mengidentifikasi perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Sebelum melakukan uji *Kruskal-Wallis*, penilaian normalitas dilakukan menggunakan pendekatan *Shapiro-Wilk* untuk memeriksa apakah data mengikuti distribusi normal. Jika nilai signifikansi $>0,05$, maka data dianggap berdistribusi normal, dan analisis dapat dilanjutkan menggunakan uji *One Way Anova*.

Uji *One Way Anova* digunakan apabila data terdistribusi normal dan menunjukkan nilai signifikansi $<0,05$ untuk membuktikan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Namun, jika data tidak berdistribusi normal ($\text{sig} < 0,05$), maka tetap digunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk membandingkan daya hambat antibakteri dari keempat konsentrasi kombinasi ekstrak terhadap *Escherichia coli*, serta dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif (Hafidh *et al.*, 2024; Yurudu *et al.*, 2023).

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik Komponen Senyawa Penyusun Kombinasi Daun Binahong dan Daun Sirsak dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Uji GC-MS dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung di dalam kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun sirsak (*Annona muricata*). Analisis komponen senyawa kombinasi daun binahong dan daun sirsak dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Berdasarkan hasil analisis GC-MS terdapat 20 puncak dengan beberapa senyawa yang berhasil teridentifikasi, sedangkan sebagian lainnya tidak menunjukkan kecocokan pada *library* sehingga tercatat sebagai *no hit compound* (Tabel 1). Hal ini cukup sering terjadi pada ekstrak tanaman herbal yang memiliki keragaman fitokimia tinggi.

Tabel 1. Hasil analisis komponen senyawa utama kombinasi daun binahong dan daun sirsak

No.	Senyawa	Peak Area	Rumus Molekul
1.	Glycerol	25.31	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$
2.	Cytidine	0.89	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5$
3.	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	3.04	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4$
4.	3-Amino-2-hydroxypyridine	0.55	$\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$
5.	Quinic acid	0.13	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$
6.	(-)-Loliolide	0.21	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$
7.	Palmitic acid	0.37	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$
8.	Linoleic acid	0.29	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$
9.	Stearic acid	0.09	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$
10.	Phytol	40.97	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$
11.	No Hit	0.09	-
12.	No Hit	0.16	-
13.	No Hit	0.09	-
14.	No Hit	2.37	-

No.	Senyawa	Peak Area	Rumus Molekul
15.	No Hit	0.10	-
16.	No Hit	1.23	-
17.	No Hit	0.21	-
18.	No Hit	0.19	-
19.	No Hit	0.13	-
20.	No Hit	0.18	-

Uji Efektivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Binahong dan Daun Sirsak terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun binahong dan daun sirsak terhadap *Escherichia coli* menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan menghasilkan zona hambat dengan diameter yang berbeda-beda. Pada kelompok konsentrasi 25% (1:1), zona hambat yang terbentuk pada empat kali replikasi adalah 8 mm, 8 mm, 7 mm, dan 7 mm dengan rerata 7,5 mm. Kelompok ini termasuk dalam kategori

resisten menurut interpretasi CLSI (2024), dengan nilai *p-value* sebesar 0,024. Konsentrasi 50% (1:1) menghasilkan zona hambat pada empat kali replikasi adalah 9 mm, 10 mm, 10 mm, dan 10 mm dengan rerata tertinggi yaitu 9,8 mm. Meskipun merupakan nilai zona hambat terbesar di antara seluruh kelompok perlakuan, kelompok ini tetap masuk dalam kategori resisten, dengan *p-value* 0,001 yang menunjukkan terdapat perbedaan signifikan dibandingkan kelompok lainnya.

Kelompok konsentrasi 75% (1:1) menghasilkan zona hambat dalam 4 kali replikasi sebesar 9 mm, 10 mm, 8 mm, dan 8 mm dengan rerata 8,8 mm. Interpretasi CLSI (2024) menunjukkan bahwa kelompok ini juga berada dalam kategori resisten, dengan *p-value* 0,272. Hasil yang sama juga ditemukan pada kelompok konsentrasi 100% (1:1) dengan rerata zona hambat 8,8 mm dan interpretasi resisten, serta nilai *p-value* 0,272.

Tabel 2. Uji Efektivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Binahong dan Daun Sirsak Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Kelompok perlakuan	Luas Zona Hambatan (mm)				Rerata (mm)	Interpretasi CLSI (2024)	Makna p-value
	1	2	3	4			
Kelompok Konsentrasi 25% (1:1)	8	8	7	7	7,5	R	0,024
Kelompok Konsentrasi 50% (1:1)	9	10	10	10	9,8	R	0,001
Kelompok Konsentrasi 75% (1:1)	9	10	8	8	8,8	R	0,272
Kelompok Konsentrasi 100% (1:1)	9	10	8	8	8,8	R	0,272
Kelompok Kontrol Positif (<i>Ciprofloxacin</i>)	35	35	35	35	35	S	-
Kelompok Kontrol Negatif (<i>Aquadest</i>)	0	0	0	0	0	R	-

Kelompok kontrol positif yang menggunakan antibiotik *ciprofloxacin*, diperoleh diameter zona hambat sebesar 35 mm pada seluruh replikasi sehingga rerata mencapai 35 mm. Zona hambat tersebut masuk dalam kategori sensitif berdasarkan interpretasi CLSI (2024), menunjukkan bakteri masih sensitif sebagian terhadap *ciprofloxacin*. Sementara itu, kelompok kontrol negatif menggunakan *aquadest* tidak menunjukkan adanya zona hambat (0 mm), sehingga termasuk ke dalam kategori resisten.

Secara umum, temuan penelitian menunjukkan bahwa diameter rata-rata zona inhibisi untuk campuran ekstrak daun binahong dan daun sirsak pada berbagai konsentrasi adalah 7,5 mm pada 25%, 9,8 mm pada 50%, dan 8,8

mm pada konsentrasi 75% dan 100%. Menurut standar CLSI (2024), semua pengukuran ini diklasifikasikan sebagai resisten karena diameter zona inhibisi ≤ 13 mm. Pemeriksaan statistik menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk mengungkapkan bahwa dua dari tiga kelompok perlakuan memiliki nilai $p < 0,05$, menunjukkan bahwa data tidak mengikuti distribusi normal. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan *p-value* $< 0,05$, sehingga perbedaan rerata zona hambat antar konsentrasi adalah signifikan secara statistik.

Tabel 3. Hasil Uji *Kruskal-Wallis*

Tes Statistik		Hasil
Kruskal-Wallis		20,337
df		5
Asymp. Sig.		0,001

Hasil analisis menunjukkan nilai 20,337 dengan 5 derajat kebebasan (df) dan tingkat signifikansi $p = 0,001$. Mengingat nilai p kurang dari 0,05, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setidaknya dua

kategori perlakuan, khususnya campuran ekstrak daun binahong dan ekstrak daun sirsak, terkait dengan diameter zona inhibisi *Escherichia coli*. Temuan ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak yang berbeda memiliki dampak yang bervariasi terhadap efektivitas antibakteri. Karena variasi signifikan yang dicatat dalam analisis Kruskal-Wallis, pemeriksaan lebih lanjut dilakukan menggunakan uji post hoc Mann-Whitney untuk mengidentifikasi kelompok mana yang berbeda secara signifikan satu sama lain.

Tabel 4. Hasil Uji *Mann-Whitney*
Analisis Uji *Mann-Whitney*

Kelompok	Kelompok	Kelompok	Kelompok	Kelompok	Kelompok	Kelompok	Kelompok
	Konsentrasi	Konsentras	Konsentras	Konsentras	Konsentrasi	Kontrol (+)	Kontrol (-)
	25%	i 50%	i 75%	100%			
Kelompok							
Konsentrasi	25%						
Kelompok							
Konsentrasi	50%						
Kelompok							
Konsentrasi	75%						
Kelompok							
Konsentrasi	100%						
Kelompok							
Kontrol (+)							
Kelompok							
Kontrol (-)							

Hasil uji lanjutan Post Hoc *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan bermakna secara statistik, yaitu perbandingan antara konsentrasi 25% dan 50%. Pada perbandingan ini diperoleh $p\text{-value} = 0,017$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 50% memiliki kemampuan antibakteri yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 25%. Temuan ini konsisten dengan rerata zona hambat yang dihasilkan, dimana konsentrasi 50% memberikan rerata sebesar 9,8 mm, lebih tinggi dari rerata zona hambat 7,5 mm pada konsentrasi 25%.

Perbandingan konsentrasi lainnya, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara konsentrasi 25% dengan 75% menghasilkan $p\text{-value} = 0,063$ dan antara

konsentrasi 25% dengan 100% diperoleh $p\text{-value} = 0,114$. Keduanya menunjukkan nilai $p > 0,05$ sehingga perbedaan yang terjadi tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun terdapat perbedaan rerata zona hambat secara numerik, perbedaan tersebut tidak cukup kuat secara statistik untuk dianggap bermakna. Dengan demikian, peningkatan konsentrasi dari 25% menuju 75% dan 100% tidak menunjukkan peningkatan efektivitas yang signifikan.

Hasil yang serupa juga terlihat pada perbandingan konsentrasi 50% dengan konsentrasi 75% diperoleh $p\text{-value} = 0,119$ serta konsentrasi 50% dengan konsentrasi 100% diperoleh $p\text{-value} = 0,119$. $p\text{-value}$ yang lebih besar dari 0,05 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi dari 50% ke tingkat konsentrasi yang

lebih tinggi tidak diikuti oleh peningkatan daya hambat yang signifikan secara statistik. Meskipun rerata zona hambat pada konsentrasi 75% dan konsentrasi 100% sebesar 8,8 mm sedikit lebih rendah dibandingkan konsentrasi 50%, perbedaan tersebut tidak cukup besar untuk dinyatakan signifikan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 75% dan konsentrasi 100% memberikan efek daya hambat yang relatif sama dengan konsentrasi 50%.

Selanjutnya, perbandingan antara konsentrasi 75% dengan konsentrasi 100% menghasilkan $p\text{-value} = 1,000$ yang menunjukkan tidak adanya perbedaan sama sekali di antara kedua kelompok. Kesamaan nilai rerata zona hambat sebesar 8,8 mm pada kedua konsentrasi memperkuat temuan ini. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi ekstrak di atas 75% tidak meningkatkan maupun menurunkan kemampuan antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

Secara keseluruhan, hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa dari seluruh pasangan konsentrasi yang dianalisis, hanya perbandingan antara konsentrasi 25% dan konsentrasi 50% yang menunjukkan perbedaan signifikan, sedangkan seluruh pasangan lainnya tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hasil ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu berkorelasi dengan peningkatan daya hambat. Pada beberapa tingkat konsentrasi, efek antibakteri cenderung stabil dan tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan.

Hasil ini mengarah pada interpretasi bahwa efektivitas optimal kombinasi ekstrak daun binahong dan daun sirsak dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* terjadi pada konsentrasi 50%, sedangkan pada konsentrasi di atas maupun di bawahnya, efektivitasnya tidak mengalami peningkatan yang berarti. Tidak adanya perbedaan yang signifikan pada konsentrasi 75% dan konsentrasi 100% mengindikasikan adanya kemungkinan kejemuhan aktivitas fitokimia, penurunan efektivitas akibat viskositas ekstrak yang meningkat, atau adanya interaksi antagonis antar senyawa aktif pada konsentrasi tinggi.

Dengan demikian, hasil uji *Mann-Whitney* memperkuat kesimpulan bahwa konsentrasi 50% merupakan konsentrasi paling efektif dalam menghasilkan zona hambat yang lebih besar dan berbeda signifikan dibandingkan konsentrasi

lainnya, meskipun secara klinis semua konsentrasi ekstrak tetap berada dalam kategori resisten berdasarkan interpretasi CLSI 2024.

Pembahasan

Karakteristik Komponen Senyawa Penyusun Kombinasi Daun Binahong dan Daun dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan instrumen analitik yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder berdasarkan pola fragmentasi ion dan waktu retensi. GC-MS memiliki sensitivitas yang sangat tinggi sehingga mampu mendeteksi senyawa dalam konsentrasi rendah, termasuk minyak esensial, lipid, terpenoid, asam lemak, dan senyawa volatil lainnya (Candraningrat *et al.*, 2021; Surahmaida *et al.*, 2019). Hasil analisis GC-MS kombinasi ekstrak daun binahong dan daun sirsak menunjukkan 20 puncak senyawa, dimana sebagian berhasil teridentifikasi, sedangkan sebagian lain tercatat sebagai *no hit compound*. Senyawa yang berhasil diidentifikasi antara lain glycerol, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one, cytidine, quinic acid, 3-amino-2-hydroxypyridine, (-)-loliolide, palmitic acid, linoleic acid, dan stearic acid, phytol.

Puncak terbesar muncul pada RT 13,659 menit dengan persentase area 40,97%, senyawa dengan area terbesar umumnya merupakan senyawa mayor yang berkontribusi besar terhadap aktivitas biologis. Berdasarkan waktu retensi (13–15 menit), sifat volatil, dan pola yang sering muncul pada ekstrak daun, senyawa mayor ini termasuk golongan diterpenoid, terutama phytol atau turunan phytol, komponen utama hasil degradasi klorofil pada daun hijau. Sebuah studi terbaru oleh Alhodieb *et al.*, (2025) mengungkapkan bahwa fitol sering berperan sebagai elemen utama dalam temuan GC-MS ekstrak daun dan memiliki sifat antibakteri yang luar biasa, termasuk efektivitas terhadap *Escherichia coli*, dengan berinteraksi dengan protein bakteri seperti DNA gyrase.

Selain itu, senyawa seperti palmitic acid dan linoleic acid juga terdeteksi meskipun dengan area kecil. Senyawa ini telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme perusakan membran, peningkatan

permeabilitas sel, dan gangguan metabolisme bakteri (Zhalifunnafsi *et al.*, 2025). Temuan ini sejalan dengan uji fitokimia terbaru yang menunjukkan bahwa asam lemak rantai panjang merupakan komponen umum pada ekstrak daun dan berperan penting dalam aktivitas antimikroba (Vázquez-Torres *et al.*, 2025).

Senyawa (-)-loliolide, walaupun terdeteksi dalam jumlah kecil, merupakan monoterpenoid yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, dan sitoprotektif. Senyawa quinic acid yang juga terdeteksi, efektif menghambat bakteri Gram-negatif dengan cara mengganggu integritas membran dan metabolisme sel. Sementara puncak yang tergolong *no hit compound* dapat disebabkan oleh keterbatasan database GC-MS, kompleksitas struktur senyawa, atau kesamaan pola fragmentasi antar senyawa. Hal ini sangat wajar pada ekstrak tanaman yang kaya metabolit. Penelitian lain yang dianalisis menggunakan GC-MS juga sering melaporkan keberadaan *no hit* karena terdapat banyak senyawa tanaman yang belum terdokumentasi dalam *library* (Shrestha *et al.*, 2024).

Perbedaan jumlah dan jenis senyawa yang terdeteksi dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti lingkungan tumbuh, umur daun, intensitas cahaya, suhu, kelembaban, serta kondisi ekstraksi. Faktor instrumental seperti suhu injektor, suhu kolom, dan kondisi ionisasi juga berpengaruh terhadap kualitas hasil GC-MS (Chen *et al.*, 2022; Margareta, 2023).

Secara keseluruhan, kombinasi ekstrak daun binahong dan daun sirsak mengandung berbagai senyawa bioaktif yang dapat bekerja secara sinergis dalam memberikan aktivitas antibakteri. Kehadiran senyawa mayor yang diduga golongan terpenoid seperti phytol, serta senyawa aktif lainnya seperti asam lemak dan monoterpenoid, mendukung hasil uji antibakteri yang menunjukkan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

Uji Efektivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Binahong dan Daun Sirsak Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Penelitian ini dilakukan untuk menilai sifat antibakteri campuran ekstrak daun binahong dan ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan empat tingkat konsentrasi berbeda: 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa setiap konsentrasi ekstrak tersebut menciptakan zona inhibisi, meskipun dikategorikan resisten berdasarkan standar CLSI (2024). Terbentuknya zona bening di area sekitar cakram mengindikasikan adanya kemampuan antibakteri dari kombinasi ekstrak tersebut, yang menunjukkan bahwa metabolit sekunder dalam kedua tanaman memiliki aktivitas biologis terhadap *E. coli*.

Zona hambat terbentuk sebagai hasil dari difusi senyawa antibakteri dari ekstrak ke dalam medium agar. Mekanisme difusi ini sangat dipengaruhi oleh tingkat viskositas ekstrak, ukuran molekul senyawa aktif, polaritas, dan interaksi antar komponen fitokimia. Pada saat senyawa aktif berdifusi dalam jumlah yang cukup untuk mencapai konsentrasi hambat minimum (MIC), pertumbuhan bakteri pada area tersebut akan terhambat sehingga terbentuk zona bening. Oleh karena itu, ukuran zona hambat sangat mencerminkan kemampuan difusi dan potensi senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak.

Meski zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini tidak jauh berbeda antar konsentrasi, terdapat variasi kecil yang menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antibakteri di antara keempat konsentrasi tersebut. Konsentrasi 50% menciptakan zona inhibisi terbesar, berukuran 9,8 mm, sedangkan konsentrasi 25% menghasilkan zona terkecil, yaitu 7,5 mm. Sebaliknya, konsentrasi 75% dan 100% menunjukkan ukuran yang sama yaitu 8,8 mm. Pengukuran ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu menyebabkan peningkatan efektivitas antibakteri; bahkan pada konsentrasi yang tinggi, aksi antibakteri akan mencapai titik jenuh.

Perkembangan area jernih pada uji difusi agar dalam penelitian ini menunjukkan bahwa campuran ekstrak etanol dari daun binahong dan daun sirsak dapat membatasi pertumbuhan *Escherichia coli* dalam lingkungan laboratorium. Ruang yang terlihat terbentuk di sekitar sumur terjadi karena zat aktif menyebar ke dalam agar hingga mencapai tingkat yang cukup tinggi untuk menghentikan pertumbuhan bakteri. Dengan demikian, zona hambat yang terbentuk tidak hanya mencerminkan kekuatan antibakteri ekstrak, tetapi juga menggambarkan kemampuan senyawa aktif dalam menyebar dan berinteraksi dengan lingkungan uji.

Metode difusi agar digunakan dalam penelitian ini sebagai uji awal aktivitas antibakteri karena bersifat sederhana dan mampu memberikan gambaran visual mengenai respons bakteri terhadap agen antibakteri. Namun demikian, diameter zona hambat yang dihasilkan dari metode ini perlu diukur secara hati-hati. Hal ini disebabkan karena zona hambat tidak hanya dipengaruhi oleh potensi antibakteri intrinsik suatu ekstrak, tetapi juga oleh berbagai faktor lain seperti sifat fisikokimia senyawa aktif, karakteristik medium agar, serta interaksi antar komponen di dalam ekstrak.

Proses difusi senyawa antibakteri di dalam medium agar sangat dipengaruhi oleh viskositas ekstrak, ukuran dan berat molekul senyawa aktif, serta polaritasnya. Senyawa dengan ukuran molekul kecil dan polaritas yang sesuai dengan medium agar cenderung berdifusi lebih cepat dan merata, sehingga mampu menghasilkan zona hambat yang lebih luas. Sebaliknya, senyawa dengan ukuran molekul besar atau bersifat sangat lipofilik akan mengalami hambatan difusi, terutama jika berada dalam matriks ekstrak yang pekat. Akibatnya, peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu menyebabkan peningkatan proporsional pada ukuran diameter zona inhibisi (Rossida, 2025). Konsentrasi 50% menghasilkan diameter zona inhibisi terluas, yaitu 9,8 mm, sedangkan konsentrasi 25% menghasilkan diameter zona inhibisi tersempit, yaitu 7,5 mm. Konsentrasi 75% dan 100%, diameter zona hambat yang terbentuk sama, yaitu 8,8 mm. Pola ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu diikuti oleh peningkatan aktivitas antibakteri yang sebanding.

Fenomena tersebut dapat dijelaskan melalui konsep hubungan dosis dan respons yang tidak selalu bersifat linier. Pada konsentrasi rendah seperti 25%, jumlah senyawa aktif yang berdifusi ke dalam medium agar kemungkinan belum mencapai kadar optimal untuk memberikan efek penghambatan pertumbuhan bakteri secara maksimal. Akibatnya, zona hambat yang terbentuk relatif kecil. Ketika konsentrasi ditingkatkan menjadi 50%, jumlah senyawa aktif meningkat dan masih memiliki kemampuan difusi yang baik, sehingga menghasilkan zona hambat yang lebih besar (Asfa *et al.*, 2025).

Namun, pada konsentrasi yang lebih tinggi seperti 75% dan 100%, peningkatan jumlah

senyawa aktif tidak lagi diikuti oleh peningkatan diameter zona hambat. Salah satu faktor utama yang berperan adalah peningkatan viskositas ekstrak. Ekstrak dengan konsentrasi tinggi cenderung memiliki konsistensi yang lebih kental, sehingga menghambat pergerakan senyawa aktif ke dalam pori-pori medium agar. Akibatnya, meskipun kandungan senyawa antibakteri meningkat, jumlah senyawa yang benar-benar berdifusi dan berinteraksi dengan sel bakteri menjadi terbatas (Asfa *et al.*, 2025, Rossida, 2025).

Konsentrasi 50%, keseimbangan antara jumlah senyawa aktif, kemampuan difusi, dan interaksi sinergis antar senyawa tampaknya berada pada kondisi yang paling optimal. Saponin berperan dalam meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, sehingga memudahkan masuknya senyawa lain seperti flavonoid dan alkaloid. Tanin dalam jumlah moderat membantu menginaktivasi protein membran tanpa secara berlebihan mengikat senyawa lain. Kombinasi mekanisme ini menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih efektif, yang tercermin dari diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi tersebut (Sawalha *et al.*, 2025).

Sebaliknya, pada konsentrasi 75% dan 100%, peningkatan viskositas ekstrak, kemungkinan terbentuknya kompleks antar senyawa, serta terjadinya saturasi target biologis menyebabkan efek sinergis berubah menjadi efek plateau. Kondisi ini menyebabkan peningkatan konsentrasi ekstrak tidak lagi menghasilkan peningkatan diameter zona hambat yang bermakna. Selain hambatan difusi, stagnasi aktivitas antibakteri pada konsentrasi tinggi juga dapat disebabkan oleh interaksi antar senyawa fitokimia di dalam ekstrak. Ekstrak tumbuhan terdiri dari kombinasi kompleks berbagai senyawa sekunder, termasuk flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Pada konsentrasi tertentu, kombinasi senyawa-senyawa tersebut dapat menghasilkan efek sinergis, di mana efek gabungan lebih besar dibandingkan efek masing-masing senyawa secara terpisah. Namun, pada konsentrasi tinggi, keseimbangan interaksi ini dapat terganggu dan berubah menjadi antagonism (Dagne *et al.*, 2025).

Contohnya tanin dalam jumlah besar dapat berikatan dengan protein maupun senyawa

polifenol lain seperti flavonoid dan alkaloid, membentuk kompleks molekul berukuran besar. Pembentukan kompleks ini tidak hanya menurunkan kemampuan difusi senyawa aktif, tetapi juga mengurangi ketersediaannya untuk berinteraksi dengan target biologis pada sel bakteri. Selain itu, akumulasi senyawa non-aktif atau senyawa dengan aktivitas antibakteri yang relatif lemah pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan efek pengenceran fungsional terhadap senyawa aktif utama (Sawalha *et al.*, 2025).

Karakteristik biologis *Escherichia coli* sebagai bakteri Gram-negatif juga berperan penting dalam menentukan efektivitas ekstrak. Bakteri Gram-negatif memiliki dinding sel yang lebih rumit dibandingkan dengan bakteri Gram-positif, terutama karena memiliki membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS). Lapisan ini berfungsi sebagai penghalang selektif yang membatasi masuknya berbagai senyawa asing, termasuk senyawa antibakteri dari bahan alam. Senyawa dengan ukuran molekul besar atau bersifat hidrofilik umumnya sulit menembus lapisan ini tanpa adanya mekanisme khusus (Rajja *et al.*, 2024).

Struktur membran luar tersebut menyebabkan *Escherichia coli* secara umum lebih resisten terhadap senyawa antibakteri alami dibandingkan bakteri Gram-positif. Hal ini menjelaskan mengapa diameter zona hambat kombinasi ekstrak binahong dan sirsak relatif kecil jika dibandingkan dengan antibiotik sintetik sebagai kontrol positif. Antibiotik sintetik umumnya memiliki struktur kimia yang dirancang khusus untuk menembus membran bakteri dan memiliki target molekuler yang spesifik, sehingga mampu menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat dan konsisten (Nurhayati *et al.*, 2020).

Ekstrak dari daun Binahong dikenal memiliki beberapa zat bioaktif yang menunjukkan efek antibakteri melalui berbagai metode. Flavonoid berfungsi dengan merusak struktur membran sel bakteri dan meningkatkan permeabilitasnya, yang mengakibatkan keluarnya materi sel internal. Selain itu, flavonoid mampu menghambat replikasi dan transkripsi DNA bakteri. Saponin memiliki sifat seperti deterjen alami yang mampu merusak stabilitas membran sel dan menyebabkan lisis. Tanin berperan dalam mengendapkan protein

struktural dan menginaktivasi enzim metabolisme, sedangkan alkaloid menghambat enzim yang berperan dalam pembentukan dinding sel bakteri. Terpenoid berkontribusi dengan mengganggu permeabilitas membran dan keseimbangan gradien proton yang penting bagi metabolisme energi bakteri (Yani *et al.*, 2024).

Respons bakteri terhadap paparan senyawa antibakteri tidak hanya ditentukan oleh kemampuan senyawa tersebut untuk memasuki sel, tetapi juga oleh kemampuan bakteri dalam mengaktifkan mekanisme adaptasi dan pertahanan diri. *Escherichia coli* diketahui memiliki sistem respons stres yang kompleks, termasuk regulasi ekspresi protein membran, aktivasi sistem pompa efluks, serta perubahan komposisi lipid membran. Mekanisme-mekanisme ini memungkinkan bakteri untuk bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, termasuk paparan senyawa antibakteri dari bahan alam (Dagne *et al.*, 2025).

Paparan konsentrasi ekstrak yang relatif rendah hingga sedang, seperti 50%, tekanan biologis yang dihasilkan kemungkinan cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa langsung memicu mekanisme adaptasi yang agresif. Hal ini dapat menjelaskan mengapa pada konsentrasi ini zona hambat yang terbentuk relatif lebih besar. Sebaliknya, pada konsentrasi yang lebih tinggi, paparan senyawa antibakteri yang lebih intens justru dapat memicu aktivasi mekanisme pertahanan bakteri, seperti peningkatan aktivitas pompa efluks atau modifikasi protein membran, sehingga efektivitas antibakteri tidak meningkat secara signifikan. Fenomena ini menunjukkan bahwa interaksi antara ekstrak tumbuhan dan bakteri bersifat dinamis dan tidak selalu mengikuti prinsip semakin tinggi konsentrasi, semakin kuat efeknya. Dalam konteks ini, efektivitas antibakteri merupakan hasil keseimbangan antara tekanan biologis yang diberikan oleh senyawa aktif dan kemampuan adaptif bakteri uji.

Berbeda dengan antibiotik sintetik yang umumnya terdiri dari satu senyawa aktif dengan target molekuler spesifik, ekstrak tumbuhan merupakan sistem multikomponen yang bekerja melalui berbagai jalur sekaligus. Setiap senyawa di dalam ekstrak memiliki sifat farmakokinetik dan farmakodinamik yang berbeda, termasuk

kemampuan absorpsi, distribusi lokal, dan interaksi dengan target biologis (Anggita *et al.*, 2022).

Penggunaan daun sirsak (*Annona muricata*) dan daun binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai bahan pengobatan tradisional telah lama dikenal dan dipraktikkan secara luas di masyarakat. Pemanfaatan kedua tanaman ini didasarkan pada pengalaman empiris yang diturunkan secara turun-temurun, terutama dalam penanganan keluhan infeksi ringan, gangguan saluran pencernaan, dan penyembuhan luka. Meskipun penggunaan herbal tersebut sering kali tidak menunjukkan efek yang secepat atau sekuat obat sintetis, hal ini tidak serta-merta menunjukkan bahwa tanaman herbal tersebut tidak efektif. Sebaliknya, efek yang lebih ringan justru menunjukkan bahwa herbal cenderung bekerja secara bertahap dengan risiko efek samping yang lebih minimal (Rahman *et al.*, 2017).

Kombinasi ekstrak binahong dan sirsak, senyawa seperti flavonoid dan alkaloid berperan sebagai pengganggu struktur dan fungsi sel, sementara acetogenins berperan sebagai penghambat metabolisme energi. Keberadaan senyawa pendukung seperti glycerol dan asam lemak membantu meningkatkan distribusi senyawa aktif di dalam medium agar. Interaksi kompleks ini menciptakan profil aktivitas antibakteri yang unik dan sulit direplikasi oleh satu senyawa tunggal (Anggita *et al.*, 2022). Sistem multikomponen ini juga memiliki kelemahan, terutama terkait dengan konsistensi dan reproduksibilitas efek. Variasi komposisi senyawa aktif akibat perbedaan metode ekstraksi, kondisi lingkungan tanaman, dan konsentrasi ekstrak dapat memengaruhi hasil uji antibakteri. Oleh karena itu, pengembangan ekstrak tumbuhan sebagai agen antibakteri memerlukan standarisasi yang ketat.

Resistensi antibiotik merupakan tantangan besar dalam dunia medis modern, khususnya pada bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli*. Bakteri ini sering terlibat dalam infeksi komunitas maupun nosokomial dan memiliki kemampuan tinggi untuk mengembangkan resistensi terhadap berbagai kelas antibiotik. Dalam konteks ini, penelitian mengenai agen antibakteri alternatif berbasis bahan alam menjadi semakin relevan (Anggita *et al.*, 2022).

Ekstrak tumbuhan, termasuk kombinasi binahong dan sirsak, menawarkan pendekatan yang berbeda dibandingkan antibiotik konvensional. Mekanisme kerja yang multitarget dapat mengurangi kemungkinan bakteri mengembangkan resistensi secara cepat. Namun, efektivitas ekstrak yang relatif lemah terhadap *E. coli* menunjukkan bahwa peran ekstrak tumbuhan lebih realistik sebagai agen pendukung atau preventif, bukan sebagai pengganti utama antibiotik (Mega Y., 2024).

Ekstrak tumbuhan berpotensi digunakan sebagai bagian dari strategi pengendalian infeksi yang lebih luas, misalnya sebagai antiseptik topikal, bahan tambahan dalam sediaan farmasi, atau agen profilaksis pada kondisi tertentu. Pendekatan ini sejalan dengan upaya global untuk mengurangi ketergantungan terhadap antibiotik sintetis. Penelitian ini bersifat *in vitro*, namun hasil yang diperoleh tetap memiliki relevansi klinis jika ditafsirkan secara proporsional. Terbentuknya zona hambar menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak binahong dan sirsak memiliki aktivitas biologis nyata terhadap *Escherichia coli*. Namun, efektivitas ini belum cukup kuat untuk diaplikasikan secara langsung sebagai terapi sistemik.

Secara konseptual, mekanisme kerja kombinasi ekstrak binahong dan sirsak terhadap *Escherichia coli* dapat dibagi menjadi beberapa tahap. Tahap awal melibatkan gangguan integritas membran oleh saponin, flavonoid, dan terpenoid. Tahap berikutnya adalah penetrasi senyawa aktif ke dalam sel dan gangguan fungsi internal, termasuk sintesis dinding sel dan replikasi DNA. Pada tahap akhir, acetogenins menghambat produksi energi sel melalui gangguan rantai transpor elektron. Kombinasi efek ini menghasilkan tekanan biologis yang cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Abdul *et al.*, 2024).

Daun sirsak kaya akan asetogenin annonaceae, yang memiliki fungsi antibakteri khas dengan memblokir kompleks I dalam rantai transpor elektron. Hambatan pada sistem ini menyebabkan produksi energi sel bakteri terganggu akibat terhentinya proses fosforilasi oksidatif. Kekurangan energi ini menghambat berbagai fungsi vital sel bakteri, termasuk sintesis dinding sel, perbaikan DNA, dan pembelahan sel. Namun, ukuran molekul

acetogenins yang relatif besar serta sifat lipofiliknya dapat membatasi kemampuan difusinya dalam medium agar, terutama pada ekstrak dengan konsentrasi tinggi (Heisler *et al.*, 2024)

Hasil uji GC-MS menunjukkan bahwa senyawa dominan yang teridentifikasi dalam kombinasi ekstrak tersebut adalah fitol, yaitu alkohol diterpen lipofilik yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme gangguan membran sel bakteri. Dominasi phytol menunjukkan bahwa gangguan integritas membran merupakan salah satu mekanisme utama dalam aktivitas antibakteri ekstrak. Keberadaan glycerol dalam jumlah relatif tinggi diduga berperan sebagai komponen pendukung yang membantu meningkatkan kelarutan dan distribusi senyawa aktif di dalam medium agar. Selain itu, senyawa fenolik, asam lemak, dan senyawa minor lainnya yang teridentifikasi kemungkinan memberikan kontribusi aditif terhadap aktivitas antibakteri ekstrak secara keseluruhan.

Hasil analisis statistik mendukung interpretasi biologis tersebut. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok konsentrasi, yang menandakan bahwa variasi konsentrasi ekstrak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri. Namun, uji lanjut Mann-Whitney menunjukkan bahwa perbedaan signifikan hanya terjadi antara konsentrasi 25% dan 50%. Tidak ditemukannya perbedaan signifikan antara konsentrasi 50%, 75%, dan 100% menunjukkan bahwa pada rentang konsentrasi tersebut aktivitas antibakteri cenderung stabil dan tidak meningkat secara bermakna. Praktik klinis, agen antibakteri harus memenuhi berbagai kriteria, termasuk efektivitas tinggi, selektivitas terhadap patogen, stabilitas, dan keamanan bagi inang. Ekstrak tumbuhan umumnya menghadapi tantangan dalam memenuhi seluruh kriteria tersebut secara bersamaan. Oleh karena itu, hasil penelitian ini lebih relevan sebagai dasar pengembangan produk turunan yang telah melalui proses pemurnian dan optimasi.

Hasil GC-MS mendukung temuan uji zona hambat, dimana dominasi phytol yang didukung oleh senyawa fenolik, asam lemak, dan komponen polar lainnya menjelaskan kemampuan kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun sirsak dalam menghambat

pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro, dengan efektivitas optimal pada konsentrasi 50%. Secara keseluruhan, penelitian ini memperlihatkan bahwa kombinasi ekstrak daun binahong dan daun sirsak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, dengan konsentrasi optimal pada 50%. Meskipun seluruh konsentrasi masih dalam kategori resisten, terbentuknya zona hambat tetap menunjukkan adanya potensi terapeutik. Dengan demikian, penelitian lanjutan sangat dianjurkan untuk meningkatkan efektivitas ekstrak.

Keterbatasan internal penelitian ini meliputi penggunaan metode difusi agar yang bersifat semikuantitatif dan sangat bergantung pada kemampuan difusi senyawa. Selain itu, penelitian ini tidak mengevaluasi efek waktu paparan, stabilitas senyawa aktif selama inkubasi, serta variasi respons antar strain *Escherichia coli*. Keterbatasan eksternal meliputi keterbatasan generalisasi hasil ke kondisi in vivo. Lingkungan biologis dalam tubuh manusia jauh lebih kompleks dibandingkan medium agar, melibatkan faktor metabolisme, distribusi jaringan, dan respons imun. Oleh karena itu, hasil penelitian ini tidak dapat langsung diterjemahkan ke dalam efektivitas klinis tanpa penelitian lanjutan.

Penelitian lanjutan perlu difokuskan pada penentuan nilai MIC dan MBC untuk memperoleh gambaran kuantitatif aktivitas antibakteri ekstrak. Selain itu, fraksinasi dan isolasi senyawa aktif utama perlu dilakukan untuk mengidentifikasi komponen yang paling berperan dalam aktivitas antibakteri. Penggunaan teknologi formulasi modern juga sangat dianjurkan untuk meningkatkan efektivitas dan stabilitas senyawa aktif.

Kesimpulan

Efektivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun binahong dan ekstrak daun sirsak terhadap perkembangan *Escherichia coli*, beberapa kesimpulan dapat ditarik, antara lain: (1) campuran ekstrak daun binahong dengan ekstrak daun sirsak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, seperti yang ditunjukkan oleh adanya zona inhibisi pada semua tingkat perlakuan. (2) Dalam analisis Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS), ditemukan bahwa kombinasi ini

mengandung 20 senyawa kimia yang berbeda. (3) Ukuran rata-rata zona inhibisi untuk campuran ekstrak menunjukkan tingkat efektivitas yang berbeda. (4) Kombinasi ekstrak daun binahong dan ekstrak daun sirsak belum berhasil menciptakan zona inhibisi yang diklasifikasikan sebagai sensitif terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* menurut standar CLSI (2024).

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada Program Studi Pendidikan Dokter, Universitas Islam Al Azhar yang telah memfasilitasi dalam penyelesaian artikel ini. Terima kasih juga kepada Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Provinsi NTB yang telah memberikan izin penulis untuk melakukan penelitian di tempat tersebut.

Referensi

- Abdul, A., Putra, A., & Amanda, D. (2024). Antimicrobial Effectiveness Of Ethanol Extract Of Annona Muricata L (Soursop Leaves) Against Escherichia Coli Bacteria In Vitro. *The Indonesian Journal Of Medical Laboratory Technology*, 1(2), 35–41.
<https://jurnal.stikesbanyuwangi.ac.id/index.php/IJ-CALORY/article/view/410>
- Abima, F., Bahar, M., & Chairani, A. (2017). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Isolat Bakteri Escherichia Coli Jajanan Cilok Secara In Vitro Dengan Metode Difusi. *Jurnal Profesi Medika : Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 11(1).
<Https://Doi.Org/10.33533/Jpm.V11i1.205>
- Alhodieb, F. S., Farid, M., Sabir, M., Nisa, S., Sarwar, S., & Abbas, S. (2025). Exploring The Bioactive Compounds Of Carica Papaya Leaves: Phytol's Role In Combatting Antibiotic-Resistant Bacteria. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*, 15.
<Https://Doi.Org/10.3389/Fcimb.2025.1564787>
- Anggita, D., Nurisyah, S., & Wiriansya, E. P. (2022). Mekanisme Kerja Antibiotik: Review Article. *Umi Medical Journal*, 7(1), 46–58.
<Https://Doi.Org/10.33096/Umj.V7i1.149>
- Asfa, B., Woldemichael, D. N., Tesfaw, L., Asefa, L., Desta, S., Girma, S., Tolera, T. S., & Tufa, T. B. (2025). Evaluating Antimicrobial Activity Of Selected Medicinal Plant Extracts Against Pasteurellosis-Causing Bacteria In Small Ruminants. *Frontiers In Veterinary Science*, 12.
<Https://Doi.Org/10.3389/Fvets.2025.1563208>
- Azizah, M., Lingga, L. S., & Rikmasari, Y. (2020). Sterilisasi Air Panas. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(1), 37.
<10.56064/jps.v22i1.547>
- Bhakti, T. S., Porwanti, R., Pribadi, P., & Rahmawati, D. (2024). Total Plate Number Test At 0.5 Mcfarland Standard In Escherichia Coli Culture. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 25(2), 94–97.
<Https://Doi.Org/10.14710/Bioma.25.2.94-97>
- Candraningrat, I. R., Abundanti, N., Mujiati, N. W., Erlangga, R., & Jhuniantara, I. M. G. (2021). The Role Of Financial Technology On Development Of Msme. *Accounting*, 7(1), 225–230.
<Https://Doi.Org/10.5267/J.Ac.2020.9.014>
- Chen, Y., Wang, Y., Liu, X., Li, W., Fu, H., Liu, X., Zhang, X., Zhou, X., Yang, B., Yao, J., Ma, X., Han, L., Li, H., & Zheng, L. (2022). Comparative Diagnostic Utility Of Metagenomic Next-Generation Sequencing, Genexpert, Modified Ziehl–Neelsen Staining, And Culture Using Cerebrospinal Fluid For Tuberculous Meningitis: A Multi-Center, Retrospective Study In China. *Journal Of Clinical Laboratory Analysis*, 36(4).
<Https://Doi.Org/10.1002/Jcla.24307>
- Dagne, A., Yenet, A., Tadege, G., Tegegne, B. A., Teffera, Z. H., Abebe, D., & Geta, B. (2025). Phytochemical Screening And Evaluating In Vitro Antibacterial And Antifungal Activity Of 80% Methanolic Impatiens Rothii Root Extract. *Scientific Reports*, 15(1).
<Https://Doi.Org/10.1038/S41598-025-20360-8>

- Yani, D. R., Silviana Hasanuddin, La Ode Saafi, Firhani Anggriani Syafrie, Fitriani W. Alani, Putri Mega Wijayanti, & Tenri Zulfa Ayu Dwi Putri. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Enau (Arenga Pinnata Merr.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 3(6), 392–408.
<Https://Doi.Org/10.54883/Jpmw.V3i6.310>
- Hafidh, M., Dwiyanti, R. D., Insana, A., & Muhsin, A. (2024). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Jahe Merah (Zingiber Officinale Var Rubrum), Daun Kelor (Moringa Oleifera), Dan Meniran Hijau (Phyllanthus Niruri L.) Sebagai Antibakteri Escherichia Coli. *Jurnal Karya Generasi Sehat*, 2(2).
<Https://Doi.Org/10.31964/Jkgs.V2i2.154>
- Han, H., Li, W., Liu, J., Zhang, X., Huo, X., Sun, Y., Chen, J., Fan, R., Zhang, J., Chen, Y., Yang, H., Chen, S., Li, Y., Tan, D., Ma, X., Fan, P., Yan, S., & Guo, Y. (2024). Seven-Year Overview Of Antimicrobial Resistance In Diarrheagenic Escherichia Coli From Sporadic Human Diarrhea Cases In 20 Chinese Provinces. *One Health Advances*, 2(1).
<Https://Doi.Org/10.1186/S44280-024-00064-W>
- Heisler, E. V., Turra, B. O., De Afonso Bonotto, N. C., Da Cruz, I. B. M., Montano, M. A. E., Azzolin, V. F., Magro, J. D., Zaniol, F., Perottoni, J., Chelotti, M. E., Dos Santos Trombini, F., Maia-Ribeiro, E. A., Barbisan, F., & Schimith, M. D. (2024). The Modulatory Effect Of An Ethanolic Extract Of Anredera Cordifolia (Ten.) On The Proliferation And Migration Of Hyperglycemic Fibroblasts In An In Vitro Diabetic Wound Model. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2024.
<Https://Doi.Org/10.1155/2024/2812290>
- Hindler, J. F., & Munro, S. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing. *Clinical Microbiology Procedures Handbook: Third Edition*, 2–3(August), 5.0.1–5.18.2.1.
<Https://Doi.Org/10.1128/9781555817435.Ch5>
- Komalasari, M., Alkausar, R., & Retnaningsih, A. (2022). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (Annona Muricata L) Terhadap Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus Dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Analis Farmasi*, 6(1), 73–78.
<Https://Doi.Org/10.33024/Jaf.V6i2.5938>
- Made Ionnandha, L., & Andriana, A. (2023). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (Annona Muricata Linn) Terhadap Bakteri Escherichia Coli Secara In Vitro Inhibition Test Of Extract From Soursop Leaf (Annona Muricata Linn) Against Escherichia Coli Bacteria. *Nusantara Hasana Journal*, 2(11), Page.
- Margareta, M. A. H., & Wonorahardjo, S. (2023). Optimasi Metode Penetapan Senyawa Eugenol Dalam Minyak Cengkeh Menggunakan Gas Chromatography – Mass Spectrum Dengan Variasi Suhu Injeksi. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 6(2), 95–103.
<Https://Doi.Org/10.24246/Juses.V6i2p95-103>
- Mega Yulia, & Dona, A. R. (2024). Uji Aktivitas Sitotoksik Daun Sirsak (Annona Muricata L.) Berdasarkan Tempat Tumbuh. *Sitawa : Jurnal Farmasi Sains Dan Obat Tradisional*, 3(2), 146–156.
<Https://Doi.Org/10.62018/Sitawa.V3i2.108>
- Morita, D., & Kuroda, T. (2025). Recent Antimicrobial Resistance Situation And Mechanisms Of Resistance To Key Antimicrobials In Enterotoxigenic Escherichia Coli. *Biological And Pharmaceutical Bulletin*, 48(3), 222–229.
<Https://Doi.Org/10.1248/Bpb.B24-00649>
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41.
<Https://Doi.Org/10.24198/Jthp.V1i2.27537>
- Rajia, S., Fujii, Y., Kawsar, S. M. A., Ozeki, Y., Jahan, S., & Hasan, I. (2024). Effectiveness Of Microbiological Assays As An Alternative Method To Determine The Potency Of Antibiotics: A Review. *Hacettepe University Journal Of The Faculty Of Pharmacy*, 44(2), 153–164.

- Https://Doi.Org/10.52794/Hujpharm.1354
419
- Rehe, D. D., Mauboy, R. S., Danong, M. T., Refli, Dima, A. O. M., & Ati, V. M. (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia) Dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Escherichia Coli. *Jurnal Biotropikal Sains*, 20(2), 1–6.
<Https://Ejurnal.Undana.Ac.Id/Index.Php/Biotropikal/Issue/Download/591/1>
- Rossida, S. A., & Indrayudha, P. (2025). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Sambiloto (Andrographis Paniculata) Terhadap Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus Phytochemical Screening And Antibacterial Activity Of Ethanol Extract And Fractions Of Sambiloto (Andrographis Paniculata) Leaves Against Escherichia Coli And Staphylococcus Aureus. *Usadha: Journal Of Pharmacy*, 4(3).
<Https://Jsr.Lib.Ums.Ac.Id/Index.Php/Ujp>
- Sawalha, H. D., Qalalweh, G., Nazzal, H., Kmail, A., & Qoraan, I. (2025). Antibacterial Potential Of Plant Extracts Against Foodborne Pathogenic Bacteria: A Phytochemical And Bioactive Analysis. *Journal Of Pure And Applied Microbiology*, 19(3), 2211–2226.
<Https://Doi.Org/10.22207/Jpm.19.3.48>
- Shrestha, P., Acharya, P., & Datt Bhatt, B. (N.D.). *Phytochemical Analysis, Antibacterial Activity, And Gc-Ms Characterization Of Methanolic Extract Of Azadirachta Indica From Nuwakot, Nepal*.
- Surahmaida, S., Umarudin, U., & Junairiah, J. (2019). Senyawa Bioaktif Daun Kumis Kucing (Orthosiphon Stamineus). In *Jurnal Kimia Riset* (Vol. 4, Issue 1).
- Vázquez-Torres, M., Rivera-Portalatín, N., & Cabrera-Asencio, I. (2025). Gc-Ms Based Phytoconstituents Profiling, Toxicity Assessment, And Potential Of Genipa Americana L. Leaf Extracts As Natural Insecticides Against Striped Mealybugs Ferrisia Sp. *Journal Of Natural Pesticide Research*, 12.
<Https://Doi.Org/10.1016/J.Napere.2025.100123>
- Wang, Y., Huang, Y., Chase, R. C., Li, T., Ramai, D., Li, S., Huang, X., Antwi, S. O., Keaveny, A. P., & Pang, M. (2023). Global Burden Of Digestive Diseases: A Systematic Analysis Of The Global Burden Of Diseases Study, 1990 To 2019. *Gastroenterology*, 165(3), 773-783.E15.
<Https://Doi.Org/10.1053/J.Gastro.2023.05050>
- Wenzler, E., Maximos, M., Asempa, T. E., Biehle, L., Schuetz, A. N., & Hirsch, E. B. (2023). Antimicrobial Susceptibility Testing: An Updated Primer For Clinicians In The Era Of Antimicrobial Resistance: Insights From The Society Of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy*, 43(4), 264–278.
<Https://Doi.Org/10.1002/Phar.2781>
- Wirastrri, D., & Zulfiana, Y. (2024). Pemberian Susu Formula Dengan Kejadian Diare Pada Bayi Usia 0-24 Bulan. *Journal Of Fundus*, 4(1), 60–65.
<Https://Doi.Org/10.57267/Fundus.V4i1.460>
- Yuridu, F. R., Herwin, H., & Fitriana, F. (2023). Antibacterial Activity Of Ethanol Extract Of Purple Kencana Leaves (Ruellia Tuberosa L.) Using Tlc-Bioautography And Agar Diffusion Methods. *Journal Microbiology Science*, 3(2), 39–46.
<Https://Doi.Org/10.56711/Jms.V3i2.983>
- Zhalifunnafsi, B. N., Sabariah, S., & Saputra, I. P. B. A. (2025). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera L*) Dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L*) Terhadap Bakteri Escherichia Coli Secara In Vitro. *Mahesa : Mahayati Health Student Journal*, 5(6), 2572–2584.
<Https://Doi.Org/10.33024/Mahesa.V5i6.18597>