Jurnal Biologi Tropis

Original Research Paper

Inhibitory Effects of Ethanolic Soursop (*Annona muricata* L.) Leaf Extract on Enteric Bacterial Pathogens

Widya Anastasia Siahaan & Ivonne Mona Selly Panjaitan*
Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Advent Indonesia, Bandung, Indonesia

Article History
Received : November 07th, 2026
Revised : November 20th, 2026
Accepted : November 23th, 2026

*Corresponding Author: **Ivonne Mona Selly Panjaitan,** Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Advent Indonesia, Bandung Barat, Jawa Barat, Indonesia; Email: ivonne.selly@unai.edu

Abstract: This study evaluated the in vitro growth-inhibitory activity of ethanolic soursop (*Annona muricata* L.) leaf extract against *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, and *Vibrio cholerae* using a disk diffusion assay. Extract concentrations of 5%, 10%, and 15% (w/v) were compared with ciprofloxacin (5 µg) and distilled water as positive and negative controls, respectively. Each treatment comprised four technical measurements on separate Petri dishes. The highest extract-associated mean inhibition zones were 11,60 mm for *E. coli* (10%), 10,48 mm for *S. dysenteriae* (15%), and 10,47 mm for *V. cholerae* (10%). Extract-only one-way ANOVA and Welch ANOVA indicated differences among concentrations for all three bacteria ($p<0.05$). However, the concentration-response pattern was not consistently monotonic, and ciprofloxacin produced substantially larger inhibition zones. These findings provide preliminary evidence of in vitro growth inhibition, but biological replication, standardized disk loading, and minimum inhibitory and bactericidal concentration assays are required before drawing pharmacological conclusions.

Keywords: *Annona muricata*; Antibacterial activity; Disk diffusion; Enteric pathogens; Soursop leaves.

Pendahuluan

Infeksi enterik akibat bakteri Gram-negatif, termasuk galur patogen *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Vibrio cholerae*, tetap menjadi perhatian kesehatan masyarakat. Ketiga bakteri tersebut dipilih karena merupakan bakteri patogen yang berkaitan dengan infeksi saluran pencernaan, sehingga pengujian terhadap ketiganya dapat memberikan gambaran awal mengenai aktivitas antibakteri ekstrak terhadap beberapa bakteri penyebab infeksi enterik. Meningkatnya kebutuhan sumber senyawa antimikroba baru mendorong eksplorasi metabolit sekunder tumbuhan sebagai kandidat awal dalam penemuan obat (Newman dan Cragg, 2020; Ríos dan Recio, 2005).

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) telah dilaporkan mengandung senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, dan asetogenin annonasea, dengan profil kimia dan aktivitas biologis yang bervariasi menurut bahan serta metode ekstraksi (Moghadamtousi *et al*., 2015; Mutakin *et al*., 2022; Gyesi *et al*., 2019; Qomaliyah *et al*., 2022; Mbuyi dan Assumani, 2022; Algeryani, 2020). Identifikasi metabolit pada penelitian terdahulu tidak berarti bahwa setiap senyawa tersebut telah dibuktikan hadir dalam ekstrak yang diuji pada penelitian ini. Oleh karena itu, pengujian aktivitas antibakteri tetap diperlukan untuk mengetahui respons bakteri terhadap ekstrak yang digunakan.

Sejumlah penelitian telah melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak atau fraksi daun sirsak terhadap *E. coli* dan bakteri lainnya, tetapi besaran aktivitas tidak dapat dibandingkan secara langsung apabila jenis pelarut, metode, konsentrasi, atau dosis per cakram berbeda (Fibonacci dan Hulyadi, 2018; Ewa-Udu *et al*., 2022; Agunloye dan Onifade, 2020; Akinde dan Dada, 2020; Wilkie *et al*.,

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

© 2026 The Author(s). This article is open access

2023; Cagnini *et al*., 2022; Pamungkas *et al*., 2026; Afrianda *et al*., 2026). Pengujian komparatif terhadap *E. coli*, *S. dysenteriae*, dan *V. cholerae* menggunakan ekstrak etanol daun sirsak pada beberapa konsentrasi dalam kondisi pengujian yang sama masih diperlukan untuk memperoleh gambaran pola penghambatan terhadap ketiga bakteri tersebut. Dengan demikian, penelitian ini memberikan informasi awal mengenai diameter zona hambat ekstrak etanol daun sirsak pada konsentrasi yang diuji.

Penelitian ini bertujuan mengukur diameter zona hambat ekstrak etanol daun sirsak pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap *E. coli*, *S. dysenteriae*, dan *V. cholerae*, membandingkan pola penghambatan antar-konsentrasi dan antar-bakteri, serta menafsirkan hasil dengan mempertimbangkan keterbatasan metode difusi cakram dan replikasi teknis.

Bahan dan Metode Penelitian

Bahan

Bahan penelitian meliputi daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebanyak 1 kg yang diperoleh dari Desa Cihanjuang Rahayu, Parongpong, Bandung Barat, Jawa Barat**.** Identifikasi botani tanaman dilakukan berdasarkan karakteristik morfologi dengan mengacu pada buku Flora of Java (Backer & Bakhuizen van den Brink, 1965). dan dikonfirmasi oleh Fakultas MIPA UNAI, dengan sampel pembanding disimpan di Laboratorium Botani/Biologi UNAI.

Simplisia daun dibersihkan, dikeringkan di dalam ruangan bersuhu 27°C–30°C dengan sirkulasi udara yang lancar dan kelembapan udara rendah selama 5 hari hingga mencapai kondisi kering. Cara ini dipilih untuk menjaga warna hijau dan mencegah kerusakan senyawa aktif akibat panas berlebih. Daun yang sudah kering ditandai dengan tekstur renyah, mudah diremas hingga hancur, dan kadar airnya sudah berada di bawah 10% agar tidak mudah berjamur saat disimpan sebelum perlakuan. Daun kemudian dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 60.

Sebanyak 100 g serbuk simplisia dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:5 (b/v) selama 3 × 24 jam. Selama proses maserasi, pelarut diganti setiap 24 jam**.** Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C dan kecepatan 100 rpm, kemudian dilanjutkan dengan pemekatan pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstraksi menghasilkan 14 g ekstrak dari 100 g serbuk simplisia kering, dengan rendemen sebesar 14% (b/b).

Pengamatan organoleptik menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak berwarna hijau tua kecokelatan, berbentuk semipadat dengan konsistensi kental dan lengket, serta memiliki aroma khas daun. Karakteristik tersebut mencerminkan sifat fisik ekstrak setelah melalui proses ekstraksi dan pemekatan.

Bakteri yang digunakan adalah *E. coli* isolat Lab-Micro-UNAI-03, Shigella dysenteriae isolat Lab-Micro-UNAI-02 dan Vibrio cholerae isolat Lab-Mikro-UNAI-01. Seluruh isolat merupakan kultur koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Universitas Advent Indonesia.

Suspensi *E. coli, S. dysenteriae,* dan *V. cholerae* disiapkan dalam NaCl fisiologis 0,9% dan disesuaikan dengan standar McFarland 0,5. Medium agar Mueller–Hinton diinokulasi dengan suspensi bakteri. Larutan ekstrak daun sirsak 5%, 10%, dan 15% (b/v) disiapkan masing-masing dari 0,5; 1,0; dan 1,5 g ekstrak dalam 10 mL akuades. Cakram kertas berdiameter 6 mm direndam dalam setiap larutan ekstrak selama 15 menit dan ditiriskan selama 15 menit sebelum diletakkan di permukaan agar. Volume larutan yang diaplikasikan pada setiap cakram sebesar 20 µL menggunakan alat ukur volume, sehingga massa ekstrak per cakram masing-masing sebesar 20 mg untuk setiap konsentrasi.

Siprofloksasin dengan dosis 5 µg per cakram digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan akuades digunakan sebagai kontrol negatif karena merupakan pelarut yang digunakan dalam pembuatan larutan ekstrak. Seluruh cakram perlakuan dan kontrol ditempatkan pada medium agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji.

Metode Penelitian

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan empat replikasi teknis untuk setiap perlakuan dan spesies bakteri. Setiap replikasi menggunakan

satu cakram kertas yang ditempatkan pada cawan Petri terpisah. Keempat cawan untuk setiap spesies diinokulasi menggunakan suspensi bakteri yang sama. Oleh karena itu, pengulangan tersebut merupakan replikasi teknis dan tidak mewakili empat replikasi biologis independen.

Cawan Petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital pada dua arah yang saling tegak lurus, yaitu horizontal dan vertikal. Rerata kedua hasil pengukuran digunakan sebagai diameter zona hambat setiap cakram. Diameter zona hambat dilaporkan dalam milimeter (mm), dengan memperhatikan bahwa pengukuran mencakup diameter cakram kertas.

Analisis Data

Data diameter zona hambat dianalisis secara terpisah untuk setiap spesies bakteri. Perbandingan lima kelompok perlakuan, yang terdiri atas tiga konsentrasi ekstrak, kontrol positif, dan kontrol negatif, dilakukan menggunakan *One-Way ANOVA*. Analisis *Welch ANOVA* digunakan sebagai pemeriksaan sensitivitas apabila terdapat indikasi ketidaksamaan varians. Perbandingan antar-konsentrasi ekstrak dilakukan secara eksploratif menggunakan uji *Tukey HSD*. Hasil analisis ditafsirkan secara hati-hati dengan mempertimbangkan bahwa empat pengulangan merupakan replikasi teknis dari suspensi bakteri yang sama.

Hasil dan Pembahasan

Diameter zona hambat

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) menghasilkan zona hambat terhadap ketiga bakteri uji dengan pola respons yang bervariasi menurut konsentrasi. Pada *Escherichia coli*, rerata diameter zona hambat meningkat dari 7,00 ± 0,26 mm pada konsentrasi 5% menjadi 11,60 ± 0,53 mm pada konsentrasi 10%, kemudian menurun menjadi 10,80 ± 0,57 mm pada konsentrasi 15%. Pada *Shigella dysenteriae*, rerata diameter zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, yaitu 6,68 ± 0,40 mm, 9,38 ± 1,50 mm, dan 10,48 ± 0,81 mm pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15%.

Pada *Vibrio cholerae*, rerata diameter zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 10% sebesar 10,47 ± 0,33 mm, sedikit lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 15% sebesar 10,32 ± 0,59 mm. Siprofloksasin menghasilkan zona hambat lebih besar dibandingkan seluruh perlakuan ekstrak pada ketiga bakteri uji, sedangkan akuades tidak menunjukkan zona penghambatan di luar diameter cakram. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan adanya aktivitas penghambatan ekstrak etanol daun sirsak secara *in vitro* terhadap ketiga bakteri uji. Namun, peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu diikuti oleh peningkatan diameter zona hambat. Pola tersebut menunjukkan bahwa respons penghambatan secara deskriptif bervariasi antarspesies bakteri.

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap tiga spesies bakteri enterik pada berbagai konsentrasi

Bakteri	Perlakuan	Zona hambat (mm)
E. coli	Ekstrak 5%	7,00 ± 0,26
E. coli	Ekstrak 10%	11,60 ± 0,53
E. coli	Ekstrak 15%	10,80 ± 0,57
E. coli	Siprofloksasin (+)	44,45 ± 5,69
E. coli	Akuades (−)	6,00 ± 0,00
S. dysenteriae	Ekstrak 5%	6,68 ± 0,40
S. dysenteriae	Ekstrak 10%	9,38 ± 1,50
S. dysenteriae	Ekstrak 15%	10,48 ± 0,81
S. dysenteriae	Siprofloksasin (+)	46,83 ± 2,55
S. dysenteriae	Akuades (−)	6,00 ± 0,00
V. cholerae	Ekstrak 5%	9,22 ± 0,46
V. cholerae	Ekstrak 10%	10,47 ± 0,33
V. cholerae	Ekstrak 15%	10,32 ± 0,59
V. cholerae	Siprofloksasin (+)	44,02 ± 1,78
V. cholerae	Akuades (−)	6,00 ± 0,00

Keterangan: Nilai 6,00 ± 0,00 mm pada kontrol negatif menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat di luar cakram. Nilai yang lebih besar menunjukkan zona penghambatan pertumbuhan bakteri yang lebih luas pada kondisi pengujian.

Hasil uji *One Way ANOVA*

Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil *One-Way ANOVA* terhadap lima kelompok perlakuan, yaitu ekstrak etanol daun sirsak konsentrasi 5%, 10%, dan 15%, kontrol positif (siprofloksasin), serta kontrol negatif (akuades), menunjukkan perbedaan diameter zona hambat yang signifikan pada *Escherichia coli* ($F = 156,85$; $p < 0,001$), *Shigella dysenteriae* ($F = 633,39$; $p < 0,001$), dan

Vibrio cholerae (F = 1.288,72; p < 0,001). Perbedaan tersebut perlu ditafsirkan dengan mempertimbangkan adanya kontras diameter zona hambat yang besar antara kontrol positif dan kelompok perlakuan ekstrak maupun kontrol negatif.

Tabel 2. Hasil Analisis One-Way ANOVA dan Welch ANOVA terhadap Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) pada Tiga Spesies Bakteri Enterik.

Bakteri	F_1	P_1	F_2	P_2	p^W
EC	156,85	<0,001	107,6	<0,001	<0,001
SD	633,39	<0,001	14,89	0,0014	0,0013
VC	1.288,72	<0,001	8,29	0,0091	0,0177

Keterangan: F1 dan p1 (5 kelompok) berasal dari ANOVA pada ekstrak 5%, 10%, 15%, kontrol positif (siprofloksasin), dan kontrol negatif (akuades). F2 dan p2 (ekstrak) berasal dari ANOVA pada tiga konsentrasi ekstrak saja. p Welch adalah nilai signifikansi Welch ANOVA untuk ketiga konsentrasi ekstrak. Nilai p < 0,05 menunjukkan perbedaan statistik antarkelompok.

Analisis lanjutan terhadap tiga konsentrasi ekstrak saja juga menunjukkan perbedaan diameter zona hambat yang signifikan pada *E. coli* (F = 107,6; p < 0,001), *S. dysenteriae* (F = 14,89; p = 0,0014), dan *V. cholerae* (F = 8,29; p = 0,0091). Hasil Welch ANOVA menunjukkan pola signifikansi yang sama pada ketiga bakteri, masing-masing dengan nilai p < 0,001, p = 0,0013, dan p = 0,0177. Hasil tersebut mengindikasikan adanya perbedaan diameter zona hambat di antara konsentrasi ekstrak yang diuji. Namun, perbedaan statistik tersebut belum menunjukkan pasangan konsentrasi yang berbeda secara signifikan dan tidak membuktikan adanya hubungan konsentrasi–respons yang konsisten. Interpretasi hasil juga perlu mempertimbangkan penggunaan empat replikasi teknis yang berasal dari suspensi bakteri yang sama.

Hasil uji lanjut Tukey HSD

Tabel 3 menerangkan hasil uji lanjut Tukey HSD menunjukkan adanya pola perbedaan diameter zona hambat yang serupa pada ketiga spesies bakteri uji. Pada *Escherichia coli*, konsentrasi ekstrak 5% menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan konsentrasi 10% dan 15% (p < 0,001), sedangkan perbandingan antara konsentrasi 10% dan 15% tidak menunjukkan perbedaan signifikan (p = 0,0935). Pola serupa ditemukan pada *Shigella dysenteriae*, dengan perbedaan signifikan antara konsentrasi 5% dan 10% (p = 0,0111) serta antara konsentrasi 5% dan 15% (p = 0,0013), tetapi tidak antara konsentrasi 10% dan 15% (p = 0,3208). Pada *Vibrio cholerae*, konsentrasi 5% juga berbeda signifikan dibandingkan konsentrasi 10% (p = 0,0118) dan 15% (p = 0,0233), sedangkan perbandingan konsentrasi 10% dan 15% tidak signifikan (p = 0,8967).

Tabel 3. Hasil Uji Lanjut Tukey HSD terhadap Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) pada Tiga Spesies Bakteri Enterik

Bakteri	Perbandingan	p Tukey	Signifikan
E. coli	10% vs 15%	0.0935	Tidak
E. coli	10% vs 5%	0.0000	Ya
E. coli	15% vs 5%	0.0000	Ya
S. dysenteriae	10% vs 15%	0.3208	Tidak
S. dysenteriae	10% vs 5%	0.0111	Ya
S. dysenteriae	15% vs 5%	0.0013	Ya
V. cholerae	10% vs 15%	0.8967	Tidak
V. cholerae	10% vs 5%	0.0118	Ya
V. cholerae	15% vs 5%	0.0233	Ya

Secara keseluruhan, hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak dari 5% menjadi 10% berkaitan dengan peningkatan diameter zona hambat yang signifikan pada ketiga spesies bakteri. Namun, peningkatan konsentrasi lebih lanjut menjadi 15% tidak menghasilkan perbedaan diameter zona hambat yang signifikan dibandingkan

dengan konsentrasi 10%. Temuan ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu diikuti oleh peningkatan aktivitas penghambatan yang signifikan dalam rentang konsentrasi yang diuji.

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak menghasilkan zona hambat di luar diameter cakram pada ketiga bakteri uji. Temuan ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak atau fraksi daun sirsak terhadap *Escherichia coli* dan bakteri lainnya (Akinde dan Dada, 2020; Wilkie *et al.,* 2023; Ewa-Udu *et al.,* 2022; Fibonacci dan Hulyadi, 2018). Meskipun demikian, respons setiap bakteri terhadap peningkatan konsentrasi ekstrak menunjukkan pola yang berbeda. Pada *E. coli* dan *Vibrio cholerae*, diameter zona hambat tertinggi secara deskriptif ditemukan pada konsentrasi 10%, kemudian sedikit menurun pada konsentrasi 15%. Sebaliknya, pada *Shigella dysenteriae*, diameter zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa respons penghambatan tidak seragam pada ketiga bakteri dan tidak membentuk pola konsentrasi–respons linear.

Variasi respons tersebut dapat berkaitan dengan perbedaan karakteristik fisiologis dan struktur sel masing-masing bakteri, termasuk komposisi membran luar, permeabilitas sel, serta kemampuan adaptasi terhadap senyawa antimikroba. Ketiga bakteri merupakan bakteri Gram-negatif, tetapi kesamaan karakteristik Gram tidak berarti memiliki tingkat kepekaan yang sama terhadap ekstrak tumbuhan. Selain itu, perbedaan diameter zona hambat juga dapat dipengaruhi oleh karakteristik senyawa dalam ekstrak dan kemampuan senyawa tersebut berdifusi melalui medium agar. Dengan demikian, perbedaan zona hambat yang diamati belum dapat dijelaskan hanya berdasarkan perbedaan spesies bakteri.

Daun sirsak diketahui mengandung berbagai kelompok metabolit sekunder, termasuk flavonoid dan senyawa fenolik yang dalam penelitian terdahulu dikaitkan dengan aktivitas antibakteri (Cushnie dan Lamb, 2005; Cushnie *et al.,* 2003; Cushnie dan Lamb, 2011; Mutakin *et al*., 2022). Beberapa senyawa dari kelompok tersebut dilaporkan berpotensi memengaruhi integritas membran atau aktivitas enzim bakteri. Namun, penelitian ini tidak melakukan penapisan fitokimia, identifikasi senyawa, maupun pengujian mekanisme antibakteri. Oleh karena itu, keberadaan dan kontribusi senyawa tertentu terhadap zona hambat yang terbentuk belum dapat dipastikan. Aktivitas penghambatan yang teramati hanya dapat dikaitkan dengan ekstrak secara keseluruhan, bukan dengan metabolit tertentu.

Diameter zona hambat dalam metode difusi cakram tidak hanya ditentukan oleh aktivitas antibakteri suatu bahan, tetapi juga dipengaruhi oleh kelarutan, ukuran molekul, kemampuan difusi dalam agar, kondisi medium, dan jumlah ekstrak yang terdistribusi pada cakram. Senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri belum tentu menghasilkan zona hambat yang luas apabila kemampuan difusinya dalam agar terbatas (Balouiri *et al.,* 2016; Ríos *et al.,* 1988; Eloff, 1998a; Eloff, 1998b). Faktor tersebut dapat menjadi salah satu pertimbangan dalam menjelaskan mengapa peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu diikuti oleh peningkatan diameter zona hambat. Selain itu, kapasitas serap cakram yang belum distandardisasi secara kuantitatif dapat menyebabkan variasi jumlah ekstrak yang diaplikasikan pada setiap cakram. Oleh karena itu, hasil difusi cakram tidak dapat langsung digunakan untuk menyimpulkan potensi farmakologis atau efektivitas klinis ekstrak. Pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bakterisidal minimum (KBM) melalui metode dilusi diperlukan untuk memperoleh informasi kuantitatif lebih lanjut mengenai aktivitas penghambatan dan kemampuan membunuh bakteri (Eloff, 1998a; *Balouiri et al.,* 2016).

Hasil *One-Way ANOVA* terhadap lima kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan diameter zona hambat pada ketiga bakteri. Namun, perbedaan tersebut perlu ditafsirkan dengan mempertimbangkan kontras antara zona hambat siprofloksasin dan kelompok ekstrak maupun kontrol negatif. Analisis khusus terhadap tiga konsentrasi ekstrak dan hasil *Welch ANOVA* juga menunjukkan perbedaan statistik antarkonsentrasi. Meskipun demikian, hasil tersebut tidak secara langsung menunjukkan

pasangan konsentrasi yang berbeda maupun membuktikan hubungan konsentrasi–respons yang konsisten. Selain itu, empat pengulangan dalam penelitian ini merupakan replikasi teknis dari suspensi bakteri yang sama, bukan replikasi biologis independen. Kondisi tersebut membatasi generalisasi hasil dan menyebabkan nilai signifikansi statistik perlu dipandang sebagai temuan eksploratif dalam kondisi pengujian yang digunakan.

Penelitian selanjutnya perlu memperhatikan autentikasi simplisia, standardisasi proses ekstraksi, pengukuran volume dan massa ekstrak yang diaplikasikan pada setiap cakram, serta karakterisasi kandungan kimia ekstrak. Penggunaan kultur atau suspensi bakteri independen juga diperlukan untuk meningkatkan kekuatan inferensi hasil. Pengujian KHM dan KBM dapat melengkapi hasil difusi cakram, sedangkan pengujian toksisitas diperlukan sebelum ekstrak dipertimbangkan untuk pengembangan lebih lanjut. Aspek keamanan perlu diperhatikan karena daun sirsak mengandung metabolit yang juga dilaporkan memiliki potensi toksikologis pada kondisi paparan tertentu (Chan *et al.,* 2020; Moghadamtousi *et al.,* 2015; Algeryani, 2020). Dengan demikian, temuan penelitian ini merupakan informasi awal mengenai aktivitas penghambatan ekstrak etanol daun sirsak secara *in vitro*, bukan bukti efektivitas terapeutik.

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) menunjukkan aktivitas penghambatan in vitro terhadap *E. coli, S. dysenteriae*, dan *V. cholerae*. Perbedaan antarkonsentrasi ekstrak terdeteksi secara statistik pada ketiga spesies, tetapi pola respons tidak selalu meningkat seiring konsentrasi dan zona hambatnya lebih kecil daripada siprofloksasin. Temuan ini masih eksploratif dan memerlukan konfirmasi melalui replikasi biologis independen, standardisasi pemuatan ekstrak per cakram, serta pengujian KHM dan KBM.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, serta masukan yang berharga selama pelaksanaan penelitian dan penulisan artikel ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada pihak laboratorium yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini sehingga dapat berjalan dengan baik.

Referensi

Afrianda, K. R., Rahman, H., & Neldi, V. (2026). Aktivitas antibakteri berbagai fraksi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Medic Nutricia: Jurnal Ilmu Kesehatan, 23*(3). https://doi.org/10.5281/zenodo.21452353

Agunloye, O. O., & Onifade, A. K. (2020). *Annona muricata*: Comparative assessment of the antibacterial activities of the leaf and stem extracts against multiple antibiotic resistant clinical isolates. *Journal of Advances in Microbiology, 20*(5), 12–21. https://doi.org/10.9734/jamb/2020/v20i530240

Akinde, K. Y., & Dada, E. O. (2020). The antibacterial efficacy of *Annona muricata* (Linn) leaves against some enteric bacteria. *South Asian Journal of Research in Microbiology, 7*(1), 19–29. https://doi.org/10.9734/sajrm/2020/v7i130161

Algeryani, S. A. (2020). Review of biological properties, composition and toxicity of *Annona muricata*. *Scientific Journal of University of Benghazi, 33*(1), 6. https://doi.org/10.37376/sjuob.v33i1.298

Backer, C. A., & Bakhuizen van den Brink, R. C. (1963). Flora of Java (Spermatophytes only) (Vol. 1). N.V.P. Noordhoff.

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis, 6*(2), 71–79. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005

Cagnini, C. Z., Dias, A. B., Vilas Boas, M. R., Batista, F. P. R., Faria, M. G. I., Glamočlija, J., Soković, M., Tešević, V., Ferreira, E. S., Colauto, N. B., Linde, G. A., & Gazim, Z. C. (2022). Antimicrobial activity of *Annona muricata* leaf oleoresin. *Natural Product Research, 36*(18), 4787–

4793. https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2011270

Chan, W.-J. J., McLachlan, A. J., Hanrahan, J. R., & Harnett, J. E. (2020). The safety and tolerability of *Annona muricata* leaf extract: A systematic review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology, 72*(1), 1–16. https://doi.org/10.1111/jphp.13182

Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents, 26*(5), 343–356. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002

Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents, 38*(2), 99–107. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014

Cushnie, T. P. T., Hamilton, V. E. S., & Lamb, A. J. (2003). Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiological Research, 158*(4), 281–289. https://doi.org/10.1078/0944-5013-00206

Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology, 22*(4), 659–665. https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971

Eloff, J. N. (1998a). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica, 64*(8), 711–713. https://doi.org/10.1055/s-2006-957563

Eloff, J. N. (1998b). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology, 60*(1), 1–8. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00123-2

Ewa-Udu, N. E., Nwanebu, F. C., & Stanley, H. O. (2022). Antibacterial screening of leaves extracts of *Annona muricata* (Annonaceae) and *Jatropha tanjorensis* (Euphorbiaceae) against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *South Asian Journal of Research in Microbiology, 13*(4), 35–42. https://doi.org/10.9734/sajrm/2022/v13i4256

Fibonacci, A., & Hulyadi, H. (2018). Uji aktivitas antimikroba daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. *Walisongo Journal of Chemistry, 1*(1), 14–17. https://doi.org/10.21580/wjc.v2i1.2669

Gyesi, J. N., Opoku, R., & Borquaye, L. S. (2019). Chemical composition, total phenolic content, and antioxidant activities of the essential oils of the leaves and fruit pulp of *Annona muricata* L. (soursop) from Ghana. *BioMed Research International, 2019*, Article 4164576. https://doi.org/10.1155/2019/4164576

Mbuyi, P. L., & Assumani, I. Z. (2022). *Annona muricata* (Graviola) (Annonaceae): Phytochemistry, pharmacology and future directions, a review. *Asian Plant Research Journal, 10*(1), 9–45. https://doi.org/10.9734/aprj/2022/v10i1181

Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Mohd Ali, H., & Abdul Kadir, H. (2015). *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences, 16*(7), 15625–15658. https://doi.org/10.3390/ijms160715625

Mutakin, M., Fauziati, R., Fadhilah, F. N., Zuhrotun, A., Amalia, R., & Hadisaputri, Y. E. (2022). Pharmacological activities of soursop (*Annona muricata* Lin.). *Molecules, 27*(4), Article 1201. https://doi.org/10.3390/molecules27041201

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products, 83*(3), 770–803. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285

Pamungkas, B. T., Yulita, V., & Ibrahim, A. (2026). Antibacterial activity of ethyl acetate fraction of soursop leaf (*Annona muricata* L.) against *Staphylococcus*

aureus and *Escherichia coli in vitro*. *Jurnal Farmasi Galenika, 13*(1), 46–56. https://doi.org/10.70410/jfg.v13i1.437

Qomaliyah, E. N. (2022). Etnofarmakologi dan potensi bioaktivitas daun dan buah sirsak (*Annona muricata*): Artikel review. *Biocity: Journal of Pharmacy Bioscience and Clinical Community, 1*(1), 39–58. https://doi.org/10.30812/biocity.v1i1.2488

Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology, 100*(1–2), 80–84. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025

Ríos, J. L., Recio, M. C., & Villar, A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology, 23*(2–3), 127–149. https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90001-3

Wilkie, E. D., Michael, P. O., Oluduro, A. O., & Alao, J. O. (2023). Antibacterial potential of *Annona muricata* (Linn.) leaf extract: A promising natural source for novel antibacterial therapies. *South Asian Journal of Research in Microbiology, 16*(1), 34–44. https://doi.org/10.9734/sajrm/2023/v16i1300