

Penambahan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) pada Amoksisilin dan Dampaknya Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus Faecalis*

The Addition of Soursop Leaf Extract (*Annona muricata L.*) to Amoxicillin and Its Impact on The Growth of *Enterococcus faecalis*

Ridha Andayani, Zaki Mubarak, Haya Nabiela

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala
Correspondence email to: ridhaandayani@usk.ac.id

Received: 23 Sept 2024; Revised: 6 Nov2024; Accepted: 22 Oct 2024; Published: 28 Nov 2024

ABSTRAK

Enterococcus faecalis merupakan bakteri Gram positif yang sering dijumpai pada infeksi endodontik. Faktor virulensinya yaitu produksi enzim gelatinase dan β -laktamase, yang berperan menghambat kerja antibiotik sehingga terjadi resistensi antibiotik, seperti amoksisilin. Pemanfaatan bahan herbal dengan kombinasi antibiotik dianggap menjadi alternatif baru untuk mengatasi resistensi antibiotik. Salah satunya adalah dengan pemanfaatan daun sirsak. Daun sirsak (*Annona muricata L.*) mengandung berbagai senyawa metabolik sekunder yang memiliki efek antibakteri seperti senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin, dan saponin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada antibiotik amoksisilin. Penelitian ini menggunakan metode *post-test only group*. Sampel yang digunakan adalah ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, dan 3% dan penelitian dilakukan dengan metode difusi sumuran. Data hasil diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji *Oneway Anova* menunjukkan adanya perbedaan bermakna kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada medium mengandung antibiotik amoksisilin berdampak pada pertumbuhan *Enterococcus faecalis*, *in vitro*.

Kata Kunci: *Enterococcus faecalis*, Ekstrak daun sirsak, Amoksisilin

ABSTRACT

Enterococcus faecalis is a Gram-positive bacterium which commonly found-in endodontic infections. Its virulence factors include the production of enzymes such as gelatinase and β -lactamase, which inhibit the action of antibiotics and contribute to antibiotic resistance, such as amoxicillin. The use of herbal ingredients in combination with antibiotics is considered to be a new alternative to overcome antibiotic resistance. One of the alternative is by using soursop leaves (*Annona muricata L.*). Soursop leaves (*Annona muricata L.*) contain various secondary metabolic compounds that have antibacterial effects such as flavonoids, alkaloids, terpenoids, tannins and saponins. The aim of this research was to determine the effect of adding soursop leaf extract (*Annona muricata L.*) to the antibiotic amoxicillin. This study used a post-test only group design. The samples used soursop leaf extract with concentrations of 0.5%, 1%, 2% and 3% and used the well diffusion method. Data on the diameter of the inhibition zone analysis using the One Way Anova test, showed a significant difference between the treatment group and the control group ($p < 0.05$). The conclusion of this research that the addition of soursop leaf extract (*Annona muricata L.*) to the antibiotic amoxicillin has an effect on the growth of *Enterococcus faecalis*.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, Soursop leaf extract, Amoxicillin

PENDAHULUAN

Enterococcus faecalis merupakan bakteri Gram-positif, digolongkan dalam kelompok bakteri anaerob fakultatif dan katalase negatif. *E. faecalis* jarang ditemukan di permukaan gigi supragingiva dan subgingiva, akan lebih sering ditemukan pada infeksi endodontik. Bakteri ini dapat berkoloni dalam poket periodontal dan bersifat patogen dalam berbagai jenis infeksi nosokomial pada pasien *immunocompromised*.¹ *E. faecalis* teridentifikasi lebih tinggi pada perawatan ulang endodontik, dengan prevalensi sebesar 89,6% dan 67,5% pada kasus infeksi endodontik primer. Faktor patogen berhubungan dengan *E. faecalis* adalah kemampuannya bertahan hidup pada lingkungan ekstrem, membentuk biofilm dan menghasilkan hemolisin. Akibatnya bakteri ini tahan terhadap fagositosis, antibodi, dan antibakteri.^{1,2}

Faktor virulensi *E. faecalis* berhubungan dengan *hyalurodinase*, *aggregation substance (AS)*, *surface adhesins*, *sex pheromones*, *extraceluller superoxideproduction (ESP)*, *lipoteichoic acid (LTA)*, *cytolysin toxin*, dan *gelatinase lytic enzyme*. Enzim-enzim yang diproduksi berperan dalam patogenesis bakteri ini, salah satunya terjadi pembentukan agregat selama proses pembentukan biofilm oleh spesies bakteri ini. Faktor ini menurunkan efektifitas antibiotik dalam melawan infeksi oleh bakteri tersebut, sehingga kasus resistensi antibiotik *E. faecalis* menjadi masalah klinik dalam bidang endodontik.^{1,3} Enzim β -laktamase yang dihasilkan oleh *E. faecalis* juga dilaporkan berperan menghambat kerja antibiotik pada bakteri ini, sehingga sejumlah strain *E. faecalis* bersifat resisten terhadap antibiotik golongan β -laktam.⁴

Amoksisilin adalah antibiotik turunan penisilin, antimikroba golongan β -laktam yang memiliki akvitivitas kerja berspektrum luas. Persentase tingkat resistensi bakteri terhadap amoksisilin, dilaporkan sebesar 67,16%.⁵ Resistensi antibiotik ini menyebabkan para peneliti mulai mencari alternatif baru dengan memanfaatkan tanaman herbal. Penambahan bahan herbal diharapkan dapat meningkatkan efektivitas antibiotik terhadap *E. faecalis*. Penelitian oleh Kurniawan (2019) menjelaskan bahwa kombinasi ekstrak daun

sirsak (*Annona muricata. L*) dan amoksisilin pada bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat sinergis.⁶ Dan dibuktikan juga oleh penelitian Michelle (2023), bahwa kombinasi ekstrak daun *Camellia sinensis* dengan sefadroksil memiliki sifat sinergistik terhadap sefadroksil, dan efektif menghambat aktifitas *E. faecalis*.⁷

Pemanfaatan tanaman sirsak di Indonesia telah banyak digunakan sebagai pengobatan penyakit seperti abses, infeksi bakteri, hipertensi, diabetes, dan lain sebagainya.⁸ Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki senyawa steroid/terpenoid, acetogenin, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Senyawa bioaktif tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga dapat dijadikan terapi komplementer antiinflamasi dan antibakteri.⁸ Studi melaporkan bahwa senyawa bioaktif, alkaloid dapat melisis membran bakteri, dan memiliki aktivitas antibakteri dengan spektrum luas.⁸ Mathew (2016) melaporkan, bahwa ekstrak daun *Annona muricata* 1% menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. faecalis*. Efektifannya sebagai bahan irigasi saluran akar sebanding dengan sodium hipoklorit 1%.⁹ Penelitian lain yang dilakukan oleh Melisa (2015) dan Rahman (2017), membuktikan ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram pos lain; *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*.^{10,11} Tujuan penelitian ini, adalah melakukan uji invitro untuk menjawab pertanyaan; apakah—penambahan ekstrak daun sirsak pada medium bakteri (*E. faecalis*) yang mengandung antibiotik amoksisilin akan efektif megghambat pertumbuhan *E faecalis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium in vitro menggunakan rancangan *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan pada Januari 2024 di Laboratorium Kimia dan Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala dan Laboratorium Fundamental Banda Aceh.

Bahan uji pada penelitian ini, adalah daun sirsak (500 gram), yang diperoleh dari perkebunan Tangse, Bakteri target *E. faecalis* ATCC 29212 dibagi maenjadi tujuh kelompok, yaitu kelompok kontrol positif,

kelompok kontrol negatif dan lima kelompok perlakuan. Ekstrak daun sirsak konsentrasi 3% dan kombinasi antara amoksisilin dengan ekstrak daun sirsak konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, dan 3% sebagai kelompok perlakuan, larutan amoksisilin 0,1% sebagai kontrol positif, dan medium dengan penambahan akuades digunakan sebagai kontrol negatif. Penelitian terdiri dari uji fitokimia dan uji antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan empat kali pengulangan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: daun sirsak (*Annona muricata L.*), tablet amoksisilin 250 mg, alkohol 70%, larutan spiritus, *Nutrien borth*, larutan Mc. Farland 0,5, etanol 96%, larutan NaCl 0,9%, pewarna krista violet, Mondant (*lugol's iodine*), Safranin (counterstain).

Pembuatan Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricara L.*) dengan Maserasi.

Daun sirsak ditimbang sebanyak 500 g lalu disortasi, untuk menghilangkan bagian daun yang tidak segar/busuk. Kemudian daun sirsak dicuci bersih dengan air mengalir dan dikeringkan secara diangin-anginkan di udara terbuka. Sampel yang telah kering diblender sampai potongan sedang dan sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi.¹²

Daun sirsak dimasukkan dalam toples steril tertutup rapat lalu dimaserasi dengan etanol 96% hingga semuanya terendam selama 24 jam. Selanjutnya ekstrak diaduk dengan dilakukan remaserasi setiap 24 jam, hingga ekstrak tidak berwarna. Setelah ekstraksi, filtrat disaring, lalu diproses menggunakan *rotary vacuum evaporator* sampai menghasilkan ekstrak pekat. Ekstrak dituangkan ke botol steril dan ditutup rapat, selanjutnya pengenceran dengan akuades.¹²

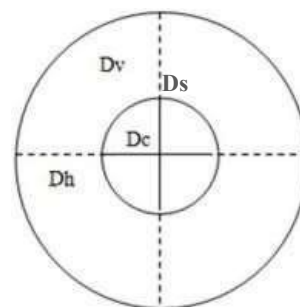
Pembuatan Suspensi *Enterococcus faecalis*

Pembuatan suspensi bakteri *E. Faecalis* dilakukan dengan mengambil biakan murni dari stok laboratorium *E. faecalis* ATCC 29212 dan disuspensikan ke dalam *Nutrient broth* sebanyak 5 ml lalu divortex. Selanjutnya tabung diinkubasi selama 24 jam, pada suhu 37°C. Tahap berikutnya, jumlah bakteri ditetapkan berdasarkan kekeruhan medium, menggunakan medium standard Mc farland 0,5 atau senilai $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.¹³

Uji Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ditentukan dengan metode difusi sumuran. Suspensi *E. faecalis* diambil menggunakan mikropipet sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam cawan petri. Media *Miuller Hinton Agar* yang belum mengeras dalam keadaan dingin ditambahkan sebanyak 25 ml dan dituangkan dalam cawan petri yang sudah berisi suspensi *E. faecalis*. Kemudian dihomogenkan dan ditunggu sampai mengeras. Setiap cawan petri dengan media *Miuller Hinton Agar* dibuat lubang sumuran berdiameter 6 mm dengan kedalaman 4 mm, sebanyak lima sumuran pada setiap cawan petri. Kemudian setiap sumuran pada media MHA diberikan perlakuan sesuai kelompok uji, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kedua cawan petri yang telah berisi kelompok uji diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setiap kelompok uji dilakukan pengulangan empat kali.^{13,14}

Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi. Aktivitas bakteri diamati dari area bening yang terbentuk di sekitar sumuran, dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat. Zona hambat bakteri diukur menggunakan jangka sorong kemudian dicatat dan dilakukan pengolahan data penelitian.¹³ Perhitungan diameter zona hambat dengan rumus berikut:



$$\frac{(Dv - Ds) + (Dh - Ds)}{2}$$

Gambar 1. Perhitungan Luas Zona Hambat¹³

Keterangan :

Dv : Diameter vertikal

Dh : Diameter horizontal

Ds : Diameter sumuran

Interpretasi hasil pengukuran yang diperoleh dinyatakan dengan satuan milimeter (mm) dan diinterpretasikan berdasarkan klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri oleh Morales dkk. (Tabel 1).¹⁵

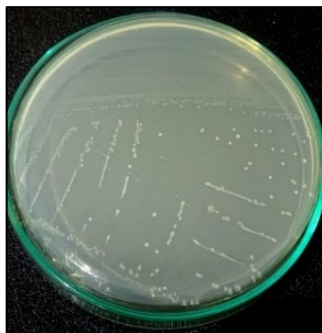
Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambat Pertumbuhan Bakteri Berdasarkan Morales *et al.*¹⁵

Diameter Zona Hambat	Repon Hambat Pertumbuhan
>20-30	Sangat Kuat
>10-20	Kuat
5-10	Sedang
<5	Lemah

Data yang telah diperoleh dalam penelitian dianalisis menggunakan *one-way* Anova dengan $P < 0,05$ menunjukkan efek signifikan penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata L.*) dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, dan 3% pada amoksisilin 2 mg terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis*. Metode *post hoc test* dilakukan sebagai uji perbandingan untuk menganalisis perbedaan pengaruh pada setiap kelompok perlakuan menggunakan uji *Tukey*. (481/KE/FGK/2024)

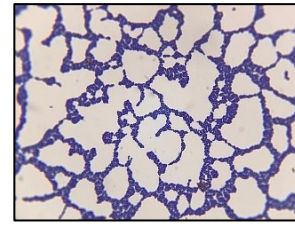
HASIL

Hasil kultur *E. faecalis* pada media MHA dengan Teknik T setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam kondisi anaerob terlihat koloni bakteri berwarna putih kekuningan (Gambar 2). Penelitian ini menggunakan metode *gaspack* untuk menciptakan kondisi anaerob untuk kultur bakteri *E. Faecalis*.



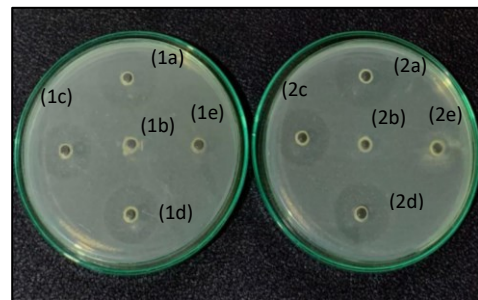
Gambar 2. Hasil Kultur *E. faecalis*

Hasil pewarnaan Gram terhadap *E. faecalis* menunjukkan koloni bakteri berwarna ungu dengan bentuk kokus (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram

Hasil uji antibakteri penelitian ini menunjukkan adanya area bening yang terbentuk pada kelompok perlakuan penambahan ekstrak pada amoksisilin dan kontrol positif, sedangkan tidak terdapat zona hambat pada kelompok perlakuan dengan ekstrak tunggal dan kontrol negatif (Gambar 4). Zona hambat disekitar sumuran diukur menggunakan jangka sorong dan dibuatkan data hasil pengukuran (Tabel 2).



Gambar 4. Zona Hambat bakteri *E. faecalis* pada Cawan petri 1 dan 2

Keterangan :

- 1a: Kontrol positif (amoksisilin 1%)
- 1b: Kontrol negatif (akuades)
- 1c: Penambahan ekstrak daun sirsak 0,5% dan amoksisilin 0,1%
- 1d: Penambahan ekstrak daun sirsak 1% dan amoksisilin 0,1%
- 1e: Ekstrak daun sirsak 3%
- 2a: Kontrol positif (amoksisilin 1%)
- 2b: Kontrol negatif (akuades)
- 2c: Penambahan ekstrak daun sirsak 2% dan amoksisilin 0,1%
- 2d: Penambahan ekstrak daun sirsak 3% dan amoksisilin 0,1%
- 2e: Ekstrak daun sirsak 3%.

Hasil pengukuran zona hambat menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dari penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) konsentrasi 3% pada amoksisilin 0,1% memiliki rata-rata zona hambat terbesar jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, yaitu sebesar 16,69 mm. Pada kelompok perlakuan ekstrak

daun sirsak (*Annona muricata. L.*) 3% tidak menunjukkan adanya zona hambat. Kelompok kontrol positif dengan pemberian amoksisilin 0,1% menunjukkan terbentuknya zona hambat, sedangkan kelompok kontrol

negatif dengan pemberian akuades tidak menunjukkan adanya zona hambat. Selanjutnya hasil pengukuran dikategorikan berdasarkan klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri oleh Morales (Tabel 1).

Tabel 2. Hasil Pengukuran Zona Hambat Uji Antibakteri

Pengulangan	P1	P2	P3	P4	P5	(K+)	K(-)
1	0	15,42	15,52	16,76	16,79	18,11	0
2	0	16,00	16,17	16,52	16,66	18,62	0
3	0	15,20	15,26	16,29	16,43	18,91	0
4	0	15,13	15,20	16,72	16,88	18,61	0
Rata (mm)	0	15,43	15,53	16,57	16,69	18,56	0
Daya Hambat	Lemah	Kuat	Kuat	Kuat	Kuat	Kuat	Lemah

Keterangan :

P1: Ekstrak daun sirsak 3%.

P2: Penambahan ekstrak daun sirsak 0,5% dan amoksisilin 0,1%.

P3: Penambahan ekstrak daun sirsak 1% dan amoksisilin 0,1%.

P4: Penambahan ekstrak daun sirsak 2% dan amoksisilin 0,1%.

P5: Penambahan ekstrak daun sirsak 3% dan amoksisilin 0,1%

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan uji *One Way Anova*. Namun sebelum dilakukan uji *One Way Anova* untuk menguji hipotesis penelitian, perlu dilakukan uji normalitas data dan uji homogenitas varian data sebagai prasyaratnya.

Hasil penelitian ini, data awal yang didapatkan uji normalitas data dan homogenitas. Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* dan uji lanjutan *Tukey test* untuk menilai signifikansi perbedaan antara pasangan rata-rata kelompok.

Tabel 3. Hasil Uji Lanjutan *Tukey Test*

Kelompok Uji	0,5% + 0,1%	1% + 0,1%	2% + 0,1%	3% + 0,1%	Amoksisilin 0,1%
0,5% + 0,1%	-	0,991	0,001*	0,001*	0,000*
1% + 0,1%	0,991	-	0,003*	0,001*	0,000*
2% + 0,1%	0,001*	0,003*	-	0,987	0,000*
3% + 0,1%	0,001*	0,001*	0,987	-	0,000*
Amoksisilin 0,1%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-

Keterangan: *P<0,05 = berbeda signifikan

PEMBAHASAN

Metode maserasi dalam penelitian ini dipilih karena dinilai praktis dan ekonomis, serta tidak merusak senyawa yang bersifat termolabil.¹⁶ Pelarut etanol 96% digunakan karena kemampuan penyaringan yang tinggi sehingga dapat menyaring senyawa non-polar, semi polar, dan polar. Tingkat penetrasi ke dalam dinding sel sampel yang tinggi dari

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa kimia tertentu yang terdapat pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*). Pada penelitian ini, senyawa kimia yang teridentifikasi dalam uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) yaitu, flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin, steroid,

pelarut etanol 96% menghasilkan ekstrak yang lebih pekat, jika dibandingkan dengan pelarut etanol konsentrasi lebih rendah.¹⁷ Hal tersebut dibuktikan oleh Yunita (2020), bahwa nilai rendemen ekstrak etanol 96% lebih besar dibanding dengan ekstrak etanol 70%, menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% lebih banyak mengekstrak senyawa dibanding dengan etanol 70%.¹⁸

dan fenolik, kecuali saponin. Beberapa senyawa yang teridentifikasi pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Asfahani (2022) dan Usunobun *et.al* (2014).^{19,20} Senyawa saponin yang tidak teridentifikasi dalam penelitian ini dapat disebabkan beberapa faktor, diantaranya perbedaan lingkungan

tempat tumbuh dan kondisi fisiologis daun (tua dan muda).²¹

Kandungan senyawa metabolik sekunder daun sirsak (*Annona muricata L*) memberikan efek antibakteri dan bekerja sinergis menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif. Senyawa bersifat antibakteri ini bekerja dengan cara mengganggu aktivitas pada permukaan sel sehingga menyebabkan denaturasi dan kerusakan sel. Tahap selanjutnya adalah menguji pengaruh penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) pada medium pertumbuhan bakteri yang mengandung amoksisilin terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis*. Pada tahapan awal, kultur dan konfirmasi bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan Gram terhadap *E. faecalis*. Hasil kultur *E. faecalis* pada media MHA terlihat koloni bakteri berwarna putih kekuningan. Penggunaan media MHA dianggap sebagai media terbaik untuk pengujian kerentanan bakteri dan juga telah direkomendasikan oleh WHO sebagai media pengujian antibakteri.¹³ Media MHA juga digunakan pada uji antibakteri karena dapat memenuhi sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri.²²

Bakteri *E. faecalis* dikonfirmasi dengan metode pewarnaan Gram dibawah mikroskop terlihat sebagai bakteri berbentuk kokus dan berwarna ungu, sesuai dengan penelitian Andayani (2016) dan Noviyandri (2018).^{23,24} Warna ungu ini menunjukkan bahwa *E. faecalis* merupakan bakteri Gram positif.^{24,25}

Berdasarkan klasifikasi Morales *et al*, kedua zona hambat yang terbentuk dikategorikan kuat (>10-20 mm). Perbedaan zona hambat tersebut dapat disebabkan karena adanya perbedaan jumlah senyawa metabolik sekunder yang terkandung dalam setiap konsentrasi ekstrak.^{15,28} Sementara kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) 3% tunggal tidak terbentuk zona hambat. Konsentrasi tersebut dirasa kurang cukup memberikan efek inhibisi terhadap pertumbuhan *E. faecalis*. Hasil ini tidak sejalan dengan hasil penelitian Mathew *et al* (2016), hasil menunjukkan ekstrak daun sirsak konsentrasi 2% memiliki daya hambat sebesar 1,5 cm.⁹ Perbedaan hasil pengujian ini dapat dipengaruhi oleh faktor perbedaan tempat asal tumbuh sampel, bakteri uji, metode dan larutan ekstraksi yang digunakan, serta

perubahan pH medium pertumbuhan bakteri setelah dilakukan penambahan bahan uji.^{21,29}

Rata-rata zona hambat kelompok kontrol positif amoksisilin 0,1% yaitu 18,56 mm. Zona hambat amoksisilin 0,1% dikategorikan kuat. Hal tersebut disebabkan amoksisilin memiliki daya sensitivitas yang tinggi terhadap *E. faecalis*, yaitu sebesar 100%.³⁰ Hasil zona hambat yang tidak terbentuk pada kelompok kontrol negatif akuades disebabkan oleh senyawa akuades bersifat netral sehingga tidak memberikan efek pada pertumbuhan bakteri dan tidak bersifat antibakteri.³¹

Perbandingan antara zona hambat hasil uji penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) 3% pada amoksisilin 0,1% dengan hasil uji kelompok kontrol positif amoksisilin 0,1% tunggal menunjukkan adanya penurunan hasil zona hambat, yaitu dari 18,56 mm menjadi 16,69 mm. Dari nilai penurunan hasil zona hambat uji tersebut, disimpulkan bahwa interaksi yang dihasilkan oleh penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) pada amoksisilin bersifat antagonis. Sifat antagonis adalah keadaan ketika obat berinteraksi dengan zat kimia lainnya sehingga dapat mengurangi atau menghilangkan efek salah satu komponen yang dikombinasikan.³² Penjelasan mendetail terkait mekanisme interaksi antagonis pada penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) pada amoksisilin belum diketahui secara pasti. Interaksi antagonis ini diduga akibat adanya interaksi dari berbagai senyawa aktif antibakteri yang berpengaruh terhadap jenis interaksi antagonis yang terjadi.³³

Menurut Ayu (2013) kombinasi ekstrak dan antibiotik yang memiliki mekanisme aksi yang berbeda biasanya bersifat sinergis atau aditif.³⁴ Secara umum amoksisilin memiliki mekanisme aksi dalam menghambat protein pengikat penisilin (PBP) sehingga proses transpeptidase terhambat dan mengganggu pembentukan dinding sel.³⁵ Pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L*) yang bertanggung jawab sebagai antibakteri adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan tannin.^{11,36} Flavonoid bekerja dengan mengganggu permeabilitas dinding sel dan dapat menghambat metabolisme sel. Alkaloid bekerja menghambat proses pembentukan peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk.³⁷ Terpenoid

bekerja dalam melarutkan lipid sehingga mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Mekanisme kerja tannin dengan menginaktivkan adhesin sel dan menurunkan kerja metabolisme bakteri.¹¹

Adanya persamaan mekanisme aksi antara senyawa flavonoid, alkaloid, terenoid dan amoksisilin. Mekanisme aksi senyawa tersebut berpengaruh pada rusaknya dinding sel bakteri, sehingga kombinasi bersifat antagonis. Menurut Herdiana (2020), kombinasi lebih baik dilakukan pada ekstrak yang telah melalui tahap fraksinasi daripada menggunakan ekstrak kasar.³⁸ Senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak kasar memungkinkan dapat bereaksi satu dengan yang lain sehingga mempengaruhi aktivitasnya. Pada penelitian ini digunakan ekstrak kasar dan sirsak (*Annona muricata L.*) sehingga kombinasi tidak memiliki aktivitas antibakteri. Anggarani (2022) melakukan pengujian antibakteri dengan kombinasi antara amoksisilin dan ekstrak *Allium sativum L.* dengan kandungan flavonoid dan alkaloid yang diduga menjadi penghambat aktivitas antibakteri.³⁷ Efek penurunan aktivitas juga dipengaruhi oleh kestabilan kimia dan fisika dari amoksisilin saat diuji, tingkat inhibisi dari konsentrasi kombinasi uji, dan pendekatan waktu lama uji juga perlu dipertimbangkan.^{29,34}

Uji *One Way Anova* dilakukan menggunakan data hasil penelittian. Hasil uji menunjukkan nilai $P=0,00$ ($P<0,05$), dianggap signifikan secara statistik, sehingga menunjukkan penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki perbedaan bermakna terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis*. Hasil ini sejalan dengan hipotesis penelitian ini, yaitu penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada medium pertumbuhan bakteri mengandung amoksisilin berpengaruh terhadap pertumbuhan *E. faecalis*.

Pada hasil uji lanjut *Tukey test* (Tabel 3) dapat diketahui bahwa penambahan ekstrak daun sirsak konsentrasi 0,5% pada amoksisilin 0,1% jika dibandingkan dengan penambahan ekstrak daun sirsak konsentrasi 1% pada amoksisilin 0,1% memiliki nilai $P=0,991$ ($P>0,05$) yang berarti tidak adanya perbedaan bermakna antara kedua kelompok tersebut. Namun berbeda dengan perbandingan antara penambahan ekstrak daun sirsak konsentrasi 0,5% dan konsentrasi 3% pada amoksisilin 0,1% yang memiliki nilai $P=0,001$ ($P<0,05$)

yang berarti adanya perbedaan bermakna. Hasil uji lanjut penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 3% dan pada amoksisilin 0,1% jika dibandingkan dengan amoksisilin 0,1% (kontrol positif) memiliki nilai $P<0,05$ yang berarti adanya perbedaan bermakna antara kelompok tersebut.

Prosedur penelitian ini hanya menguji antibakteri dengan metode maserasi, perlu dilakukan penelitian lanjut terkait penambahan ekstrak daun sirsak pada medium pertumbuhan bakteri mengandung amoksisilin menggunakan metode fraksinasi dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*). Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan terkait pengukuran Ph medium uji antibakteri setelah penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan pengaruhnya terhadap kerja antibiotik amoksisilin.

SIMPULAN

Penambahan daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada medium pertumbuhan bakteri mengandung amoksisilin berdampak pada pertumbuhan *E. faecalis* in vitro. Efektifitas ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) tidak tergantung pada konsentrasi ekstrak dan memiliki sifat sinergistik terhadap antibiotik.

SARAN

Berdasarkan simpulan diatas, penulis mengusulkan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait interaksi antagonis yang terjadi pada penambahan daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada amoksisilin menggunakan prinsip kerja metode *Ameri-Ziaei double antibiotic synergism test* (AZDAST).

DAFTAR PUSTAKA

1. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*. 2020 Mar 13;12(3).
2. Rams TE, Feik D, Mortensen JE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic Susceptibility of Periodontal *Enterococcus faecalis*. *J Periodontol*. 2013 Jul;84(7):1026–33.
3. Ben Braïek O, Smaoui S. *Enterococci*: Between Emerging Pathogens and

- Potential Probiotics. *Biomed Res Int*. 2019 May 23;2019:1–13.
4. García-Solache M, Rice LB. The *Enterococcus*: a Model of Adaptability to its Environment. *Clin Microbiol Rev*. 2019 Mar 20;32(2).
 5. Pratiwi RH. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-life*. 2017 November; 4(3)
 6. Kurniawan D, Sulistyowati E, Hakim R. Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Metanolik atau Dekokta Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dengan Amoksisilin pada Bakteri *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. 2019;6(3)
 7. Nugroho Santosa D, Michelle. Efek Potensiasi Antibakteri Kombinasi Sefadoksil dan Ekstrak Daun *Camellia sinensis* (Kajian in vitro pada *Enterococcus faecalis* dan *Staphylococcus aureus*). *Jurnal Kedokteran Gigi Terpadu*. 2023 Jul 4;5(1): 1-5
 8. Mutakin M, Fauziati R, Fadhillah FN, Zuhrotun A, Amalia R, Hadisaputri YE. Pharmacological Activities of Soursop (*Annona muricata Lin.*). *Molecules*. 2022 Feb 10;27(4):1201.
 9. Mathew J, George R, Theruvil R, Padavil TC, Tomy L, Kurian A. Antibacterial Activity of Leaf Extract of *Annona muricata* and *Simarouba glauca* on *Enterococcus faecalis*. *J Contemp Dent Pract*. 2016 Aug;17(8):650–3.
 10. Tuna MR. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Pharmacon*. 2015;4(4):65-70
 11. Rahman FA, Haniastuti T, Utami TW. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2017 Oct 31;3(1):1-7
 12. Mukriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 2014;7(2):1-6
 13. Putra IMAS. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dengan Metode Difusi Agar Cakram Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 2015 Apr 2;1(1):15–9.
 14. Soraya. C, Crismirina. S, Novita R. Pengaruh Perasan Bawang Putih (*Allium Sativum L.*) sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar dalam Menghambat Pertumbuhan *Enterococcus Faecalis* Secara In Vitro. *Cakradonya Dent Journal*. 2018;10(1):1–9.
 15. Mayasari U, Putri M. Uji Antibakteri Virgin Coconut Oil dari Berbagai Merek Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Enterococcus faecalis*. *Klorofil*. 2020;4(2):83–6.
 16. Mawarda A, Samsul E, Sastyarina Y. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana Merr*) terhadap Rendemen Ekstrak dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 2020 Feb 28;11:1–4.
 17. Vita Wendersteyt N, Wewengkang DS, Sumantri Abdullah S. Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi *Ascidian herdmania Momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*. 2021 Feb;10(1).
 18. Yunita E, Khodijah Z. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol saat Maserasi terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica L.*) secara Spektrofotometri UV-Vis. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 2020 Des;17(2):273-280.
 19. Asfahani F, Ulil Amna dan. Analisis Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata Linn.*) dari Kota Langsa. *Jurnal Kimia Sains dan Terapan*. 2022;4(2):5-10
 20. U Usunobun, P Okolie N, G. Andayanwu O, J Adegbeji A. Phytochemical Screening and Proximate Composition of *Annona muricata* leaves

- European Journal of Botany Plant Science and Pathology. 2014;2(1): 18-28.
21. Agung Dhimasena Widyananda G, Nova Mahendra A, Made Jawi I. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Muda dan Tua Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. *Intisari Sains Medis* 2021;12(1):212–8.
 22. Wari Rahman I, Nurul Fadlilah RR, Nova Kristiana H, Dirga A. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Serratia marcescens*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 2022;13(1):14-22.
 23. Andayani R, Mubarak Z, Rinanda DR. Aktivitas Antibakteri Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus Rubellus*) Terhadap *Enterococcus Faecalis* Secara In Vitro. *J Syiah Kuala Dent Soc.* 2016;1(2):201–10.
 24. Noviyandri PR, Andayani R, Rizky E. Potensi Ekstrak Alga Merah *Gracilaria verrucosa* sebagai Penghambat Perkembangan Pembentukan Biofilm *Enterococcus faecalis* pada Infeksi Saluran Akar Gigi. *J Syiah Kuala Dent Soc.* 2018;3(1):6–15.
 25. Mubarak Z, Chismirina S, Daulay HH. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami Dari Sarang Lebah Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *J Syiah Kuala Dent Soc.* 2016;1(2):175–86.
 26. Nurhayati LS, Yahdiyani N, Hidayatullah A. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan* . 2020;12:41–46.
 27. Amalia Agatha Sari Z, Febriawan R. Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode *Well Diffusion* dan *Kirby Bauer* Terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal Medika Hutama*. 2021;2(4):1-5
 28. Febrianti DR, Kumalasari E. Potensi Kombinasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Dengan Amoksisilin Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Borneo Journal Of Pharmascientech.* 2019;3(1):11-17
 29. Caesar LK, Cech NB. Synergy and Antagonism in Natural Product Extracts: When 1 + 1 Does Not Equal 2. *Natural Product Reports.* 2019 June;36(6):869-888.
 30. Putri Ayuningtyas J, Astuti P, Warna Aju Fatmawati D. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Vitamin C dan Amoksisilin sebagai Bahan Alternatif Intrakanal Medikamen terhadap *Enterococcus faecalis* secara In Vitro. *Journal Pustaka Ilmu Kesehatan.* 2021 Januari;9(1):60-65.
 31. Hana Putri Gerung W, Fatimawali, Antasionasti I. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Botol (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acne* Penyebab Jerawat. *E-Journal UNSRAT.* 2021 November;10(4):1087-1093.
 32. Li J, Wang S, Tian F, Zhang SQ, Jin H. Advances in Pharmacokinetic Mechanisms of Transporter-Mediated Herb-Drug Interactions. *Pharmaceuticals.* 2022 Sep 8;15(9):1126.
 33. A'yun Q, Risandiansyah R, Fadli Z. Efek Kombinasi Alkaloid Ekstrak *Phyllanthus niruri, L.* dengan Amoxicillin atau Chloramphenicol terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. 2020. Skripsi
 34. Puspita Ayu D. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Jambu Monyet (*Anacardium occidentale L.*) dan Vankomisin Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2013 Januari. Skripsi
 35. de Marco BA, Natori JSH, Fanelli S, Tótolí EG, Salgado HRN. Characteristics, Properties and Analytical Methods of Amoxicillin: A Review with Green Approach. *Critical Reviews in Analytical Chemistry.* Taylor and Francis Ltd.; 2017;47:1040-8347.

36. Rasyidah R. Studi Etnobotani Dan Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*). *Klorofil: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*. 2019;3(1):10-14.
37. Anggarani L, Yahya A, Hakim R. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Amoksisilin dengan Fraksi-Fraksi dari ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *UNISMA Repository*. 2021. Skripsi
38. Herdiana I, Aji N. Fraksinasi Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Gambir serta Uji Antibakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 2020;19(3):1-5