

**EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK DELIMA PUTIH
(*Punica granatum*) DAN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP DAYA
HAMBAT *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO**

Dea Revi Mahreza¹, Faisal², Gatra Ervi Jayanti³
Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Islam Malang, Indonesia^{1,2,3}
revi7566@gmail.com¹, faisal_abd@unisma.ac.id²
gatra.ervi@unisma.ac.id³

ABSTRACT

*Antibiotic resistance represents a global health crisis that has driven the exploration of natural products as alternative antibacterial agents. This research aimed to evaluate the efficacy of combining white pomegranate peel (*Punica granatum*) and red betel leaf (*Piper crocatum*) extracts in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* in vitro. A completely randomized design (CRD) was employed using the disc diffusion method. The treatments consisted of combination ratios of 1:1, 1:2, and 2:1 at concentrations of 25, 50, 75, and 100%. Chloramphenicol served as the positive control, while distilled water was used as the negative control. The findings revealed that the 1:2 ratio combination produced the highest inhibition zone (25.50 mm), which was significantly different ($p < 0.05$) from the positive control. This combination demonstrated a mutually reinforcing effect. It was concluded that the combination of white pomegranate peel extract and red betel leaf extract holds promise as a natural antibacterial agent.*

Keywords: white pomegranate; red betel; combination; *Staphylococcus aureus*; antibacterial

ABSTRAK

Resistensi antibiotik menjadi ancaman kesehatan global yang mendorong eksplorasi bahan alam sebagai alternatif antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efektivitas kombinasi kulit delima putih (*Punica granatum*) serta daun sirih merah (*Piper crocatum*) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan dengan metode difusi cakram. Perlakuan meliputi kombinasi dengan rasio 1:1, 1:2, dan 2:1 dengan konsentrasi (25,50,75 dan 100%). Kontrol positif menggunakan kloramfenikol, kontrol negatif akuades. Hasil menunjukkan kombinasi rasio 1:2 menghasilkan zona hambat tertinggi (25,50 mm) yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibanding kontrol positif. Kombinasi ini bersifat saling memperkuat, disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak kulit delima putih dan daun sirih merah berpotensi sebagai agen antibakteri alami.

Kata kunci: delima putih; sirih merah; kombinasi; *Staphylococcus aureus*; antibakteri

A. Pendahuluan

Infeksi bakteri masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di berbagai negara, termasuk Indonesia. Salah satu bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi pada manusia adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai penyakit, mulai dari infeksi kulit ringan hingga infeksi berat seperti pneumonia, endokarditis, osteomielitis, dan sepsis. Kemampuan *Staphylococcus aureus* untuk beradaptasi terhadap berbagai kondisi lingkungan serta membentuk resistensi terhadap antibiotik menjadikannya ancaman serius bagi kesehatan global (Pratama et al., 2022).

Resistensi antimikroba (*Antimicrobial Resistance/AMR*) saat ini telah menjadi krisis kesehatan dunia. Menurut *World Health Organization*, resistensi antimikroba menyebabkan sekitar 1,27 juta kematian secara langsung pada tahun 2019 dan berkontribusi terhadap jutaan kematian lainnya di seluruh dunia (WHO, 2022). Hasil penelitian Murray et al. (2022) menunjukkan bahwa AMR merupakan salah satu

penyebab kematian terbesar secara global dan diperkirakan dapat menyebabkan hingga 10 juta kematian per tahun pada tahun 2050 apabila tidak dilakukan upaya pengendalian yang efektif. Salah satu faktor utama yang mempercepat munculnya resistensi adalah penggunaan antibiotik yang tidak rasional, baik berupa penggunaan tanpa resep, penghentian terapi sebelum waktunya, maupun penggunaan dosis yang tidak sesuai (Pratama et al., 2022).

Indonesia dikenal sebagai negara megabiodiversitas yang memiliki kekayaan tanaman obat sangat melimpah. Berdasarkan laporan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2024). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri adalah sirih merah. Daun sirih merah diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri yang berperan dalam aktivitas antibakteri.

Flavonoid mampu merusak permeabilitas membran sel bakteri dan menghambat sintesis asam nukleat, sedangkan tanin dapat mengendapkan protein sehingga

mengganggu fungsi dinding sel bakteri (Chairunisa et al., 2022; Zulkarnain et al., 2023). Hasil serupa juga dilaporkan oleh Zulkarnain et al. (2023), yang menemukan bahwa ekstrak daun sirih merah mampu menghasilkan zona hambat yang menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

Selain sirih merah, tanaman lain yang memiliki potensi antibakteri adalah delima putih. Berbagai bagian tanaman delima, terutama kulit buahnya, diketahui kaya akan senyawa fenolik, polifenol, tanin, flavonoid, dan asam ellagat yang berperan sebagai antimikroba alami (Faisal et al., 2025; Innaya et al., 2024). Kandungan tanin pada kulit delima dapat berikatan dengan protein membran sel bakteri sehingga menyebabkan kerusakan struktur sel dan menghambat metabolisme mikroorganisme (Putria et al., 2022). Penelitian Evania dan Rakainsa (2023) menunjukkan bahwa ekstrak kulit delima putih memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Pemanfaatan kombinasi dua tanaman obat dengan kandungan

senyawa aktif yang berbeda berpotensi menghasilkan efek antibakteri yang lebih kuat dibandingkan penggunaan ekstrak tunggal. Menurut Hemeg (2020), kombinasi berbagai senyawa fitokimia dapat menghasilkan potensi efek sinergis melalui mekanisme kerja yang saling melengkapi, seperti peningkatan permeabilitas membran bakteri, penghambatan sintesis protein, gangguan metabolisme sel, hingga peningkatan penetrasi senyawa aktif ke dalam sel bakteri. Efek sinergis tersebut berpotensi meningkatkan efektivitas antibakteri sekaligus mengurangi kemungkinan terjadinya resistensi mikroba.

Meskipun berbagai penelitian telah membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak sirih merah maupun delima putih secara tunggal, penelitian yang mengkaji efektivitas kombinasi kedua ekstrak tersebut terhadap *Staphylococcus aureus* masih sangat terbatas. Padahal, kombinasi keduanya berpotensi memberikan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi bekerja melalui mekanisme berbeda. Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak tunggal maupun kombinasi ekstrak

kulit delima putih dan daun sirih merah terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan sumber antibakteri alami yang berpotensi digunakan sebagai alternatif dalam menghadapi meningkatnya kasus resistensi antibiotik.

B. Metode Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro* ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variabel bebas berupa kombinasi ekstrak kulit delima putih dan daun sirih merah pada rasio 1:1, 1:2, dan 2:1 dengan variasi konsentrasi 25, 50, 75, dan 100%. Variabel terikat adalah diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Penelitian dilaksanakan pada Desember 2025-Februari 2026 di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Malang.

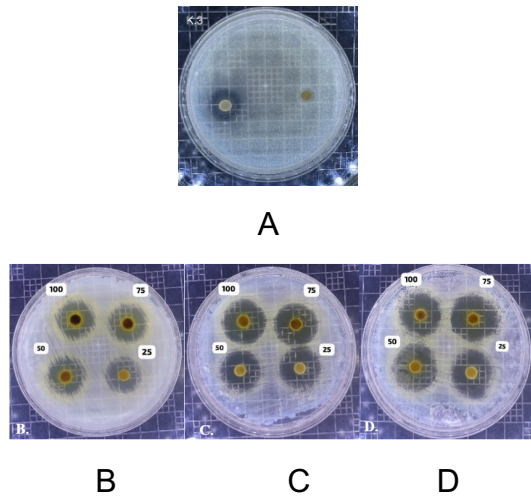
Simplisia kulit delima putih dan daun sirih merah dikeringkan, dihaluskan, dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% selama 24 jam, kemudian

dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Bakteri uji diremajakan pada media *Nutrient Agar* (NA), disuspensikan dalam *Mueller Hinton Broth* (MHB), dan distandarisasi kekeruhannya setara McFarland 0,5.

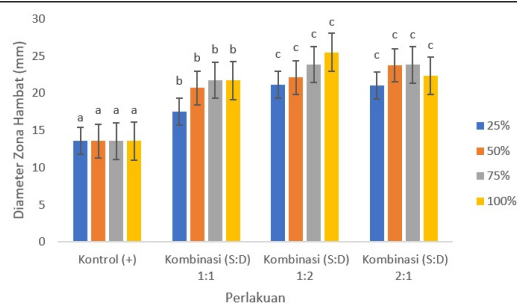
Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) diinokulasi dengan suspensi bakteri secara *spread plate*. Kertas cakram steril direndam dalam larutan uji (ekstrak kombinasi, kloramfenikol sebagai kontrol positif, dan aquades sebagai kontrol negatif) selama 15 menit, kemudian diletakkan pada permukaan media dan diinkubasi 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital (mm).

Data dianalisis menggunakan uji ANOVA satu arah ($\alpha=0,05$) dilanjutkan uji LSD dengan SPSS versi 25. Kategori aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambat: <5 mm (lemah), 5–10 mm (sedang), 11–20 mm (kuat), dan >20 mm (sangat kuat).

C.Hasil Penelitian dan Pembahasan



Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus*: (A) Kontrol positif dan negatif; (B) Kombinasi (S:D) 1:1 ; (C) Kombinasi (S:D) 1:2; (D) Kombinasi (S:D) 2:1.



Gambar 2. Diagram Diameter zona hambat

Hasil pengukuran zona hambat (gambar 2) yang menunjukkan bahwa kombinasi rasio 1 :2 menghasilkan diameter zona hambat tertinggi dibandingkan kombinasi lainnya. Adanya perbedaan yang signifikan secara statistik menunjukkan bahwa variasi rasio kombinasi ekstrak tidak hanya memberikan perbedaan secara

numerik, tetapi juga berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri. Oleh karena itu, kombinasi ekstrak daun sirih merah dan kulit delima putih rasio 1 :2 dapat dianggap sebagai formulasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini.

Pembahasan

Kontrol positif kloramfenikol menghasilkan zona hambat rata-rata 13,58 mm terhadap *Staphylococcus aureus* (kategori kuat), sedangkan aquades sebagai kontrol negatif tidak membentuk zona hambat (0 mm). Hal ini memastikan bahwa aktivitas penghambatan pada kelompok perlakuan berasal dari senyawa aktif ekstrak, bukan dari pelarut.

Kombinasi rasio 1:2 pada konsentrasi 100% memberikan zona hambat tertinggi (25,50 mm; sangat kuat), lebih tinggi dibandingkan kontrol positif dengan selisih 7,25%. Namun, perbandingan ekstrak tanaman dengan antibiotik standar perlu diinterpretasi hati-hati karena faktor teknis seperti difusi senyawa, ketebalan media, komposisi nutrisi, stabilitas senyawa aktif, dan kondisi inkubasi turut memengaruhi hasil (Samputri dkk., 2020; Rizki dkk.,

2021). Oleh karena itu, pengujian lanjutan diperlukan untuk memastikan efektivitas secara komprehensif.

Seluruh kombinasi perlakuan menghasilkan zona hambat bervariasi sesuai rasio dan konsentrasi. Rasio 1:2 menunjukkan aktivitas tertinggi (25,50 mm), diikuti rasio 2:1 (23,82 mm pada konsentrasi 75%) dan rasio 1:1 (21,74 mm pada konsentrasi 75%). Pada rasio 2:1 terjadi penurunan zona hambat dari 23,82 mm (75%) menjadi 22,36 mm (100%). Penurunan ini diduga akibat peningkatan viskositas ekstrak yang menghambat difusi senyawa aktif ke media agar (Putri dkk., 2025), serta interaksi antarsenyawa seperti tanin dan alkaloid yang dapat memicu pengendapan atau kompleksasi, mengurangi bioavailabilitas dan efektivitas antibakteri (Putria dkk., 2022; Santoso & Riyanta, 2020).

Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih merah dan kulit delima putih diduga berasal dari mekanisme kerja sama berbagai senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Minyak atsiri yang terdapat pada daun sirih merah bersifat lipofilik sehingga mampu meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri dan

mempermudah masuknya senyawa aktif lainnya ke dalam sel (Chairunisa dkk., 2022). Selanjutnya, tanin yang terkandung pada kedua tanaman bekerja dengan cara mengendapkan protein penyusun dinding sel bakteri, terutama pada lapisan peptidoglikan, sehingga menyebabkan kerusakan struktur dinding sel dan meningkatkan kerentanan bakteri terhadap senyawa antibakteri lainnya (Evania dkk., 2023).

Setelah terjadi kerusakan pada membran dan dinding sel, alkaloid dari daun sirih merah berperan dalam menghambat pembentukan peptidoglikan serta mengganggu sintesis materi genetik bakteri. Di sisi lain, flavonoid yang terdapat pada daun sirih merah dan kulit delima putih mampu menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam replikasi DNA, sintesis protein, dan produksi energi sel bakteri (Faisal dkk., 2025). Kerja sama berbagai senyawa tersebut menghasilkan efek sinergis yang meningkatkan aktivitas antibakteri secara keseluruhan.

Hasil uji statistik mendukung temuan ini, dengan ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan antarperlakuan ($p < 0,001$) dan LSD mengonfirmasi bahwa rasio 1:2

berbeda nyata dibandingkan rasio 1:1 dan kontrol positif. Proporsi kulit delima putih yang lebih tinggi pada rasio 1:2 diduga memberikan kontribusi senyawa antibakteri dominan tanpa menghambat difusi. Temuan ini membuka peluang pengembangan kombinasi ekstrak sebagai alternatif antibakteri alami untuk mengatasi resistensi antibiotik, mengingat mekanisme multitarget yang tidak spesifik pada satu situs tunggal. Namun, penelitian lanjutan diperlukan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), identifikasi senyawa aktif dominan, serta uji keamanan dan efektivitas skala lebih luas (Januarista dkk., 2024).

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, kombinasi ekstrak daun sirih merah dan kulit delima putih terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Seluruh perlakuan mampu menghasilkan zona hambat dengan tingkat efektivitas yang berbeda-beda, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa

variasi rasio dan konsentrasi kombinasi ekstrak berpengaruh signifikan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk ($p < 0,05$).

Kombinasi ekstrak daun sirih merah dan kulit delima putih dengan rasio 1:2 pada konsentrasi 100% merupakan perlakuan terbaik dengan diameter zona hambat sebesar 25,50 mm yang termasuk kategori sangat kuat. Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi kedua ekstrak berpotensi dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami alternatif untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan mendukung upaya penanggulangan resistensi antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Chairunisa, A., Dewi, R., & Handayani, S. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap bakteri patogen. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 14(2), 123–132.
- Evania, R., & Rakainsa, B. (2023). Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit delima putih (*Punica granatum* L.) terhadap *Escherichia coli* dan

- Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 21(1), 56–64.
- Faisal, Ramadhan, M., Rafsanjani, R., & Januarista, T. (2025). Optimasi metode analisis terhadap kandungan fenol total dan aktivitas antioksidan pada kulit dan biji buah delima putih (*Punica granatum* L.). *Jurnal Biologi Tropika*.
- Hemeg, H. A. (2020). Combating antibiotic resistance: The role of plant extracts and their synergistic effects with antibiotics. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3132–3141.
- Innaya, A. Y., Rohmawati, N. V., Ramadhani, M. W., Raisya, N., & Hidayah, U. (2024). Uji skrining fitokimia pada kulit delima merah (*Punica granatum* L.) di Taman Alquran Universitas Islam Malang. *Jurnal Pengabdian dan Penelitian*, 2(1).
- Januarista, T., Mubarakati, N. J., & Ramadhan, M. (2024). Investigation of total phenol content in red pomegranate leaves extract (*Punica granatum* L.). *JSMARTech*, 5(1), 9–14.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2024). *Laporan situasi resistensi antimikroba di Indonesia 2023*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gay, A., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655.
- Pratama, R., Sari, N., & Utami, D. (2022). Tantangan resistensi antibiotik di Indonesia: Tinjauan penggunaan antibiotik di rumah sakit. *Jurnal Kedokteran Indonesia*, 13(2), 87–95.
- Putri, B., Wulandari, A. N., Putri, D. A., Mawarni, I., Laksono, B. A., Nurjanah, N. S., et al. (2025). Pengujian zona inhibisi difusi cakram ekstrak rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. *Journal of Aquatropica Asia*, 9(2), 69–76.
- Putria, D. K., Salsabila, I., Darmawan, S. A. N., Pratiwi, E. W. G., &

- Nihan, Y. A. (2022). Identifikasi tanin pada tumbuh-tumbuhan di Indonesia. *PharmaCine: Journal of Pharmacy, Medical and Health Science*, 3(1), 11–24.
- Rizki, N., et al. (2021). Prosedur inokulasi bakteri dan penyimpanan kultur. *Jurnal Ilmiah Mikrobiologi Indonesia*, 15(2), 123–130.
- Samputri, R. D., Toemon, A. N., & Widayati, R. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kamandrah (*Croton tiglium* L.) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan metode difusi cakram (Kirby–Bauer). *Herb-Medicine Journal*, 3(3), 19–33.
- Santoso, J., & Riyanta, A. B. (2020). Pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut pengekstrak terhadap stabilitas sifat fisik dan aktivitas antibakteri pada sediaan foot sanitizer spray kombinasi ekstrak biji kopi dan rimpang jahe. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(2), 264–274.
- World Health Organization. (2022). *Antimicrobial resistance*. World Health Organization.
- Zulkarnain, A., Nurul, F., & Pradana, D. (2023). Aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 6(1), 45–53.