

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SRIKAYA
(*Annona squamosa* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
ROSSA WIJAYANTI SUTANTO
NIM. 2182063**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SRIKAYA
(*Annona squamosa* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

**INHIBITION TEST OF THE ETHANOL 96% EXTRACT OF SRIKAYA
LEAVES (*Annona squamosa* L.) AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* BACTERIA**



**KARYA TULIS ILMIAH
DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN JENJANG PENDIDIKAN
DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH
ROSSA WIJAYANTI SUTANTO
NIM. 2182063**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SRIKAYA
(*Annona squamosa* L.) TERHADAP BAKTERI
*Pseudomonas aeruginosa***

**Disusunoleh:
ROSSA WIJAYANTI SUTANTO
NIM. 2182063**

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Pada tanggal 04 Maret 2021

Tim Penguji:

Yusianti Silviani, M.,Pd. (Ketua)
Didik Wahyudi, M.Si (Anggota)
Aulia Nur Rahmawati, M.Si (Anggota)

Mengetahui,
Pembimbing utama

Aulia Nur Rahmawati, M.Si

Menyetujui,
Ketua Program Studi

apt. Dwi Saryanti, S.Farm., M.Sc



PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul :

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dan/atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar pada Program Studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh

Surakarta, 04 Maret 2021



Wijayanti Sutanto
NIM.2182063

MOTTO

Hai orang-orang yang beriman, jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar

(terjemah Q.S Al-Baqarah ayat 153)

Aku tidak peduli atas keadaan susah dan senangku, karena aku tidak tahu manakah di antara keduanya itu yang lebih baik bagiku.

(Umar Bin Khattab)

PERSEMBAHAN

1. ALLAH SWT dengan petunjuk, rahmat, ridho, tuntunan serta limpahan-Nya memberikan kemudahan, mengajari saya arti sabar dan bersyukur dalam hidup, dan Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan jejak langkah saya.
2. Keluarga saya yang saya sayangi, saya cintai, dan saya banggakan, Bapak Sutanto, Ibu Sri Lestari, kakak ku Kukuh Gentar Sasongko.
3. Ibu Aulia Nur Rahmawati,M.,Si selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Susi Rahmawati selaku pembimbing kegiatan penelitian saya. Terimakasih atas kebesaran hatinya, kesabaran, dan kelembutan dalam membimbing saya dan mengarahkan saya selama saya melakukan penelitian.
4. Bapak Ibu Dosen yang telah memberikan ilmu dengan tulus ikhlas, sahabat-sahabatku yang selalu mendukung dan menemani saat senang maupun duka.
5. Almamater yang saya banggakan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional .
6. Untuk partner kerja saya di dalam laboratorium saat melakukan penelitian yaitu Annissa, terimakasih atas doa, dukungan, bantuan yang diberikan untuk saya mencapai semua ini.
7. Rekan-rekan mahasiswa Reguler B'18 terimakasih untuk suka duka selama ini yang kita rasakan bersama-sama, semoga dilain hari kita masih bisa bertemu kembali.

PRAKATA

Assalamualaikum wr.wb

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*. Karya Tulis Ilmiah ini di susun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Diploma tiga (DIII) pada prodi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

Berdasarkan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini, penyusun mendapat bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Allah SWT atas segala rahmat, syukur, kemudahan yang telah diberikan.
2. apt. Hartono, S.Si, M.Si. selaku Direktur Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
3. apt. Dwi Saryanti, M.Sc selaku Ketua Program Studi DIII farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
4. Aulia Nur Rahmawati,.M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan dengan ikhlas meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan kesabaran dalam membimbing penulis mengerjakan perencanaan penelitian hingga selesai.
5. Yusianti Silviani,.M.Pd. selaku tim penguji yang dengan ikhlas meluangkan waktu, tenaga serta telah memberikan kritik dan saran dalam menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Didik Wahyudi,.M.Si selaku tim penguji yang dengan ikhlas meluangkan waktu, tenaga serta telah memberikan kritik dan saran dalam menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.

7. Susi Rahmawati, A,Md. selaku pendamping pengambilan data penelitian yang meluangkan waktu, memberi petunjuk, pengarahan serta kritik dan saran dalam proses menyelesaikan penelitian. Bapak dan ibu dosen serta asisten dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis.
8. Seluruh laboran Laboratorium Program Studi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, khususnya bapak Very dan Ibu Wina, Petrus Riki dan pak Bowo yang setia menemani dan atas bantuan serta fasilitas selama mengerjakan penelitian.
9. Keluarga saya yang saya sayangi, saya cintai, dan saya banggakan, Bapak Sutanto, Ibu Sri Lestari, kakak ku Kukuh Gentar Sasongko.
10. Seluruh dosen dan asisten dosen di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
11. Untuk teman seperjuangan saya “Fans Dory Kriyuk-kriyuk” atas nama Nanda Arindra, Ayu Widyaningsih, Fitriana Melenia Prasetyaningrum yang telah memberikan motivasi dan semangat.
12. Partner kerjaku Annissa. Terimakasih atas kebersamaannya, walaupun sebentar tetapi apa yang kalian ajarkan untuk saya begitu bermanfaat.
13. Untuk saudaraku sekaligus sahabatku Ayu Tri Utami , terimakasih telah memberikan motto hidup, semangat yang tiada henti, terimakasih selalu mengingatkan untuk sholat dan berbuat baik.
14. Terimakasih untuk teman seperjuangan dari PRODI D3 FARMASI REG.B dan PRODI D3 FARMASI REG. B yang tidak bisa disebutkan satu persatu.
15. Terimakasih untuk pihak lain yang tidak bisa disebutkan penulis satu persatu. Terimakasih atas dukungan dan semangat yangtelah diberikan.

Meskipun saya telah berusaha semaksimal mungkin dalam penyusunan proposal tetapi saya sadar bahwa proposal yang saya tulis masih jauh dari kesempurnaan dan masih mempunyai banyak kekurangan. Maka dari itu, saya sebagai penulis menerima segala kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini. Penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat dimanfaatkan.

Sukoharjo, 19 Februari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

COVER	i
HALAMAN SAMPUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
MOTTO	iv
PERSEMBAHAN.....	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
INTISARI	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TUJUAN PUSTAKA	5
A. Landasan Teori	5
1. Klasifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
2. Morfologi dan fisiologi bakteri	6
3. Patogenitas	6
4. Taksonomi tanaman Srikaya (<i>Annona squamosa L</i>)	8
5. Morfologi tanaman Srikaya (<i>Annona squamosa L</i>)	9
6. Kegunaan tanaman srikaya (<i>Annona squamosa L</i>)	9
7. Kandungan senyawa	10
8. Ekstraksi	13
9. Metode pengujian aktifitas antibakteri	13
B. Kerangka Pikir	15

C. Hipotesis	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
A. Desain Penelitian	16
B. Tempat dan Waktu Penelitian	16
C. Instrumen Penelitian	16
1. Alat	16
2. Bahan	17
D. Populasi dan sampel	16
E. Besar sampel	18
F. Identifikasi variabel penelitian	18
G. Definisi operasional variabel penelitian	19
H. Alur penelitian	20
1. Bagan penelitian	20
2. Cara Kerja	20
a. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun Srikaya	21
b. Pembuatan stok variabel konsentrasi ekstrak	21
c. Skrinning fitokimia	22
d. Pembuatan stok bakteri	24
e. identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
f. Uji biokimia bakteri gram negatif <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
g. Pemurnian bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
h. Sterilisasi alat dan bahan	28
i. Pembuatan media	28
j. Pembuatan suspensi bakteri	29
k. Uji daya hambat ekstrak etanol daun srikaya (<i>Annona squamosa</i> L)	29
I. Analisis Data Penelitian	30
J. Rencana jadwal penelitian	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Preparasi sampel	31
B. Metode ekstraksi daun srikaya	32
C. Skrinning fitokimia	33
D. Karakteristik bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
E. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol 96% Daun Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	44
B. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	46

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Randemen Ekstrak Etanol Daun Srikaya	34
Tabel 2. Hasil Skrinning Fitokimia	40
Tabel 3. Interpretasi Diameter Zona Hambat Ciprofloxacin	42
Tabel 4. Hasil Pengukuran Daya Hambat	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
Gambar 2. Pohon Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>)	8
Gambar 3. Kerangka pikir	15
Gambar 4. Bagan penelitian.....	20
Gambar 5. Uji flavonoid	35
Gambar 6. Uji alkaloid 1.....	35
Gambar 7. Uji alkaloid 2.....	35
Gambar 8. Uji terpenoid	37
Gambar 9. Uji fenolik	38
Gambar 10. Uji tanin	38
Gambar 11. Hasil pewarnaan gram negatif.....	39
Gambar 12. deret lengkap dan Uji Biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
Gambar 13. Bakteri pewarnaan gram	49
Gambar 14. Replikasi 1.....	50
Gambar 15. Replikasi 2.....	50
Gambar 16. Replikasi 3.....	50
Gambar 17. Replikasi 4	50
Gambar 18. Hasil inokulasi bakteri	50
Gambar 19. Hasil ekstrak.....	50
Gambar 20. Hasil determinasi.....	50

INTISARI

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol 96% Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) Terhadap

Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*

Oleh :

ROSSA WIJAYANTI SUTANTO

NIM.2182063

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri penyebab utama infeksi nosokomial pada saluran kemih, infeksi luka pasca operasi, infeksi pembuluh darah dan meningitis khususnya pasien dengan sistem imun rendah. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat sebagai co-infection dari Covid-19. Daun Srikaya termasuk dalam tanaman obat tradisional, yang mengandung senyawa flavonoid. Pada penelitian kali ini digunakan varian konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, dan 100% yang akan digunakan untuk melakukan uji antibakteri. Pada penelitian kali ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan dari ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Untuk mengetahui pada varian konsentrasi 100% ekstrak etanol 96% daun Srikaya menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini dilakukan menggunakan jenis penelitian eksperimen yang menggunakan metode Kirby & Bauer dan menggunakan Blank disk dan dicelupkan kedalam ekstrak dan media Nutrient agar. Pada penelitian ini didapatkan hasil dari kontrol positif menggunakan antibiotik ciprofloxacin dari 4 kali replikasi dan didapatkan rata-rata sebesar 40,875mm, pada 4 varian konsentrasi tidak ditemukan adanya zona hambat. Kesimpulan untuk penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) tidak mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pada seri konsentrasi 100% daun Srikaya tidak mampu menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, begitu juga pada seri konsentrasi 25%, 50%, dan 75% juga tidak mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci : *Pseudomonas aeruginosa*, Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) , Ciprofloxacin, Kirby & Bauer, flavonoid

ABSTRACT

INHIBITION TEST OF THE ETHANOL 96% EXTRACT OF SRIKAYA LEAVES (*Annona squamosa* L.) AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* BACTERIA

By:

ROSSA WIJAYANTI SUTANTO

NIM.2182063

Pseudomonas aeruginosa bacteria are the main cause of nosocomial infections of the urinary tract, postoperative wound infections, blood vessel infections and meningitis, especially in patients with low immune systems. *Pseudomonas aeruginosa* bacteria can be a co-infection from Covid-19. Srikaya leaves are included in traditional medicinal plants, which contain flavonoid compounds. In this research, extract concentration variants of 25%, 50%, 75%, and 100% were used which will be used to carry out the antibacterial test. This research aims to determine the ability of the ethanol extract of 96% Srikaya leaves (*Annona squamosa* L.) in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. To find out, the 100% concentration variant of the 96% ethanol extract of Srikaya leaves produced the largest inhibition zone in the growth of the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. This research was conducted using a type of experimental research using the Kirby & Bauer method and using a blank disk and immersed in the extract and Nutrient agar media. In this study, the results of positive control using the antibiotic ciprofloxacin were obtained from 4 replications and an average of 40.875mm was obtained, in 4 concentration variants there was no inhibition zone found. The conclusion for this study was that the ethanol extract of 96% Srikaya leaves (*Annona squamosa* L.) was unable to inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. In the 100% concentration series, Srikaya leaves were unable to inhibit *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, as well as the concentration series of 25%, 50%, and 75% were also unable to inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Srikaya leaves (*Annona squamosa* L.), Ciprofloxacin, Kirby & Bauer, flavonoids

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Pseudomonas aeruginosa merupakan penyebab infeksi, salah satunya infeksi saluran pernafasan akut (Depkes RI., 2009). Saxena dkk., (2015) menyatakan bahwa dari 270 sampel penderita infeksi saluran pernafasan akut menunjukkan 29,6% disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang sifatnya patogen oportunistik. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* bisa ditemukan di tanah, air, tanaman, atau di lingkungan rumah sakit. Bakteri ini juga bisa ditemukan di peralatan terapi pernafasan, shower dan wastafel. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat sebagai coinfection dari Covid-19 atau SARS-Cov 2. Infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mempunyai gejala yang sama dengan Covid-19 yaitu demam, batuk dan kesulitan bernapas (PDPI, 2020).

Pengobatan terhadap infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* umumnya menggunakan antibiotik. Antibiotik yang digunakan yaitu ciprofloksasin yang merupakan antibiotik golongan fluoroquinolon dengan spektrum luas. Ciprofloksasin berguna untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *enterobacteriaceae*. Ciprofloksasin digunakan untuk mengobati infeksi akibat bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Campylobacter* dan *Klebsiella sp* (Sudigdoadi, 2007).

Penggunaan antiobiotik yang berlebih akan menyebabkan munculnya mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotik, potensi efek resisten terhadap

mikroba akan semakin meningkat seiring banyaknya mengkonsumsi antibiotik tersebut. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri golongan resisten, selain menghasilkan enzim β -laktamase yang dapat menghidrolisis cincin β -laktam atau antibiotik, juga dapat mengeluarkan antibiotik dalam sel secara *efflux-pump* sehingga menyebabkan bakteri resisten terhadap beberapa obat golongan antibiotik (Agustina dkk., 2016).

Berdasarkan uraian diatas menjelaskan jika mengkonsumsi antibiotik yang berlebih menyebabkan resistensi terhadap antibiotik. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional di Indonesia telah dilakukan sejak lama. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tanaman Srikaya (*Annona squamosa L.*). Tanaman masuk dalam spesies famili Annonacea, berasal dari Hindia Barat sering ditanam di pekarangan, dibudidayakan, atau tumbuh liar, dan bisa ditemukan sampai ketinggian 800 m dpi (Yuliarti,2010).

Daun Srikaya mengandung tanin, fenolik, polifenol, glikosida, saponin, karbohidrat, protein, fitosterol, asam amino, alkaloid dan terpenoid. Dimana terpenoid, flavonoid, fenolik dan alkaloid dikenal memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Tansil,2016). Akarnya banyak mengandung saponin, tanin, dan polifenol. Biji mengandung minyak, resin dan bahan beracun yang bersifat iritan. Buahnya mengandung asam amino, gula buah, dan mucilago. Buah muda mengandung tanin (Yuliarti, 2011).

Berdasarkan latar belakang di atas, dilakukan penelitian tentang Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol 96% Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Diharapkan dari hasil penelitian mengetahui pengaruh daun Srikaya terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan

mengetahui kandungan senyawa dalam daun Srikaya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang lebih baik.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
2. Pada konsentrasi berapa ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa*) dapat menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kemampuan ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa*) yang mampu menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Menambah pengetahuan tentang daya hambat ekstrak etanol 96% daun Srikaya terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Manfaat Praktis

- a. Bagi penulis

Menambah pengalaman dan pengetahuan bagi penulis dalam membuat Karya Tulis Ilmiah. Menambah wawasan dan pengetahuan penulis dalam melakukan penelitian daya hambat ekstrak etanol 96% daun srikaya (*Annona squamosa*)

b. Bagi masyarakat

Memberi informasi kepada masyarakat tentang alternatif daun srikaya (*Annona squamosa*) sebagai pencegah infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Karya Tulis Ilmiah ini menggunakan jenis penelitian eksperimental deskriptif , yaitu dengan melihat zona hambat ekstrak etanol daun Srikaya terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan seri konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi, dan Laboratorium Obat Tradisional di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional di Surakarta

C. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *erlenmeyer*, gelas ukur 10 mL (pyrex), pipet tetes, batang pengaduk, corong, kaca arloji, tabung reaksi (pyrex), cawan petri, botol maserasi, ohse bulat, dan ohse lurus, *vacum rotary evaporator*, pinset , inkubator, oven, label, kapas, kasa steril, timbangan analitik, mikroskop cahaya, jangka sorong, *micro pipet*, dan tip, kaca objek, kertas cakram, bunsen, autoklaf, pipet ukur, kapas lidi steril, pinset , cawan petri steril, pipet steril, botol jar, spidol, tabung reaksi, dan korek api.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun Srikaya, bakteri murni *pseudomonas aeruginosa*, spiritus, media NA (Nutrient Agar), Aquadest, kain kasa steril, KIA, SIM, Urea, Citrat, MR, VP, PAD, KH, (glukosa, maltosa, laktosa, sakarosa), Blank disk, etanol 96%, DMSO 10%, cat gram A,B,C,D, Reagen Mayer, Dragendroff, Antibiotik Ciprofloksasin 5µg, NaCl 0,9%, HCl pekat, minyak emersi, alkohol, Na miring, Na plate, larutan standar Mc-Farland, media fermentasi karbohidrat. Reagen Uji biokimia : Indikator *phenol red* , reagen erlich, reagen *methyl red*, reagen barried , Reagen KOH 40%, FeCl 10%, Media MC/ENDO, media BHI (Brain Heart Infusion).

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi sampel

Populasi penelitian kali ini adalah daun srikaya (*Annona squamosan L.*) yang didapatkan dari Tanjungsari, Kabupaten Sukoharjo, Kecamatan Sukoharjo.

2. Sampel penelitian

Sampel penelitian yaitu ekstrak etanol daun Srikaya (*Annona squamosan L.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

E. Besar Sampel

Sampel penelitian kali ini adalah daun srikaya (*Annona squamosan L.*) penentuan jumlah replikasi sampel pada penelitian kali ini adalah menggunakan rumus federer, yaitu :

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$\text{Jadi } (t - 1)(r - 1) \geq 15$$

T = Jumlah Perlakuan

R = Replikasi

Perhitungan :

$$(6 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$5(r - 1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 20 : 5$$

$$r = 4$$

F. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel konsentrasi ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa* L.)

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian kali ini adalah diameter zona hambat ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa* L..) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

G. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Konsentrasi yang digunakan untuk penelitian ini yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100% ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa* L). Daun Srikaya yang

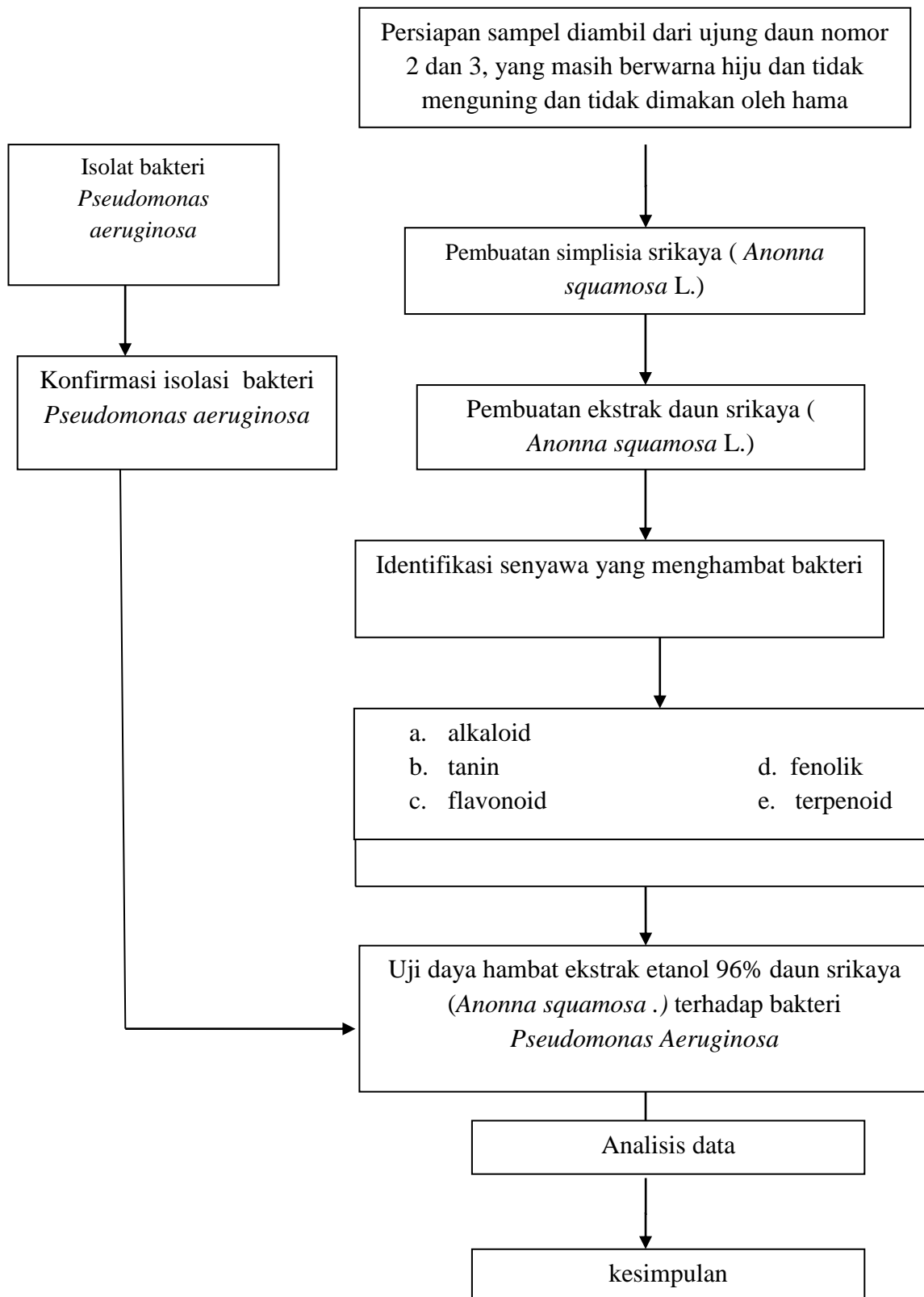
digunakan untuk penelitian kali ini di peroleh dari desa Tanjungsari, Kabupaten Sukoharjo, Kecamatan Sukoharjo. Yang digunakan adalah daun Srikaya yang di ambil dari ujung nomor 2 dan 3, masih berwarna hijau tidak menguning, dan tidak dimakan oleh hama (Soedarso,2012)

2. Variabel Terikat

Penelitian kali ini ditentukan oleh zona radikal yang terbentuk dalam satuan (mm) ekstrak etanol daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Sukoharjo.

H. Alur Penelitian

Bagan Penelitian



Gambar 4.. Bagan penelitian

1. Cara kerja

a. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun Srikaya

Timbang serbuk daun sebanyak 200 gram. Kemudian masukkan kedalam bejana maserasi lalu tambahkan etanol 96%. Kemudian dimaserasi dengan 2,5 liter etanol 96% selama 2-5 hari. Proses maserasi setelah selesai selama 5 hari, kemudian disaring dengan kalin flanel dan kertas saring. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* listrik pada suhu 40°C-60°C sehingga dihasilkan ekstrak kental daun srikaya. (Nugraheni Putri,2019)

b. Pembuatan stok variabel konsentrasi ekstrak

Penelitian kali ini menggunakan ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa L.*). Stok konsentrasi yang akan divariasikan pelarut DMSO, serta menggunakan kontrol negatif DMSO.

Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Keterangan :

V1 = Volume awal sebelum pengenceran

V2 = Volume setelah pengenceran

M1 = Konsentrasi sebelum pengenceran

M2 = Konsentrasi setelah pengenceran.

Perhitungan ekstrak untuk pembuatan larutan uji :

1. Konsentrasi 100%

Sebanyak 5 gram ekstrak kental diencerkan dengan DMSO sampai 5 ml dalam labu ukur 5 ml.

2. Konsentrasi 75%

Sebanyak 3,75 gram ekstrak kental diencerkan dengan DMSO sampai 5 ml dalam labu ukur 5 ml.

3. Konsentrasi 50%

Sebanyak 2,5 gram ekstrak kental diencerkan dengan DMSO sampai 5 ml dalam labu ukur 5 ml.

4. Konsentrasi 25%

1,25 gram ekstrak kental di encerkan dengan DMSO sampai 5 ml dalam labu ukur 5 ml.

5. Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO

6. Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik ciprofloxacin.

c. Skrining Fitokimia

Dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam daun srikaya yaitu :

1) Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan penambahan serbuk magnesium dan HCL pekat , sehingga memunculkan senyawa kompleks berwarna merah muda atau jingga yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada daun srikaya .
(Zhao,dkk., 2014).

2) Alkaloid

Ekstrak daun srikaya dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Larutan yang didapat kemudian dibagi 3 tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan pereaksi Dragendroff sebanyak 3 tetes, dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid (Jones dan Kinghorn, 2006).

3) Terpenoid

Ekstrak dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrida. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung tersebut. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol. Bila cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid (Jones dan Kinghorn, 2006; Evans, 2009).

4) Fenolik

Ekstrak daun Srikaya (*Annona squamosa L.*) ditimbang 10 mg, ditambahkan 20 mL air panas dan 5 tetes larutan NaCl 10%. Campuran dibagi menjadi 2 tabung reaksi, tabung pertama sebagai kontrol dan tabung kedua ditambahkan larutan FeCl₃ 1% 3 tetes. Hasil positif apabila terbentuk warna biru atau biru hitam (Tarigan *et al*, 2008).

5) Tanin

Uji tannin dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan FeCl₃. Hasil uji menunjukkan positif dengan perubahan warna menjadi hijau kecoklatan.

Tanin merupakan senyawa yang mengandung grup OH yang diketahui sangat baik digunakan sebagai antioksidan (Zhao, dkk., 2014).

d. Pembuatan stok bakteri

Siapkan media BHI. Inokulasikan suspensi bakteri ke media BHI menggunakan ose bulat secara aseptis. Kemudian homogenkan media BHI yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

e. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

1. Pengecatan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pada *object glass* bersih kering dan bebas lemak disiapkan. Sempel diambil 1-2 ose secara aseptis dari media BHI, kemudian ratakan pada *object glass*. *Object glass* dikeringkan dengan cara dianginkan dan difiksasi di atas nyala api bunsen. *Object glass* dikering anginkan. *Object glass* kering digenangi dengan cairan cat Gram A selama 2-5 menit, buang sisa cat. *Object glass* tanpa harus dibilas langsung digenangi dengan cat Gram B selama 30-40 detik, cuci dengan air mengalir, lakukan decolorisasi dengan cat Gram C sampai luntur. *Object glass* dicuci dengan air mengalir, genangi dengan cat Gram D selama 2 menit. Buang sisa cat, cuci dengan air mengalir, kering anginkan. Periksa di bawah mikroskop dengan lensa objektif 100x dengan ditambahkan minyak emersi 1 tetes.

2. Inokulasi *Pseudomonas aeruginosa* pada media MC (*Mac Konkey*)

Sempel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasikan pada media MC (*Mac Monkey*) secara goresan menggunakan ohse bulat secara aseptis, kemudian inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Amati koloni yang tumbuh pada media MC dan pengecatan, inokulasikan 1 koloni yang terpisah dalam media deret lengkap dan gula-gula menggunakan ohse lurus dan ohse bulat secara aseptis, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati hasil uji biokimia dan fermentasi karbohidrat.

f. Uji biokimia Bakteri Gram Negatif *Pseudomonas aeruginosa*

1) KIA/TSIA

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig zag pada kemiringan media, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Amati adanya pembentukan :

a. Fermentasi

Fermentasi asam/asam hasil positif ditandai dengan media berwarna kuning, sedangkan untuk alkali/basa hasil positif ditandai dengan media tetap berwarna merah.

b. Gas

Hasil positif ditandai dengan adanya bagian yang kosong pada media atau media terangkat ke atas.

c. H₂S

Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna orange ke warna hitam pada media.

2) SIM

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar media, kemudian inkubasi pada suhu 37°C.

Amati adanya pembentukan :

a. H₂S

Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media

b. Motil

Hasil positif jika terdapat pertumbuhan yang menyebar disekitar tusukan/ pada permukaan media atau media menjadi keruh.

c. Indol

Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah setelah ditambahkan 5 tetes reagen ferlich/ kovac.

3) UREA

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar media, kemudian inkubasi pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna media menjadi warna merah.

4) CITRAT

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan sezara zig zag pada kemiringan media, kemudian inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna dari biru pada media.

5) VP/MR

Isolat di inokulasikan ke dalam media kemudian inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

Amati adanya pembentukan :

a. VP

Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah setelah media ditambahkan 10 tetes reagen Barried dan 4 tetes reagen KOH 40% serta tunggu selama 10 menit.

b. MR

Hasil positif ditandai dengan warna merah setelah menambahkan 3 tetes reagen methyl red kedalam media.

6) PAD

Isolat di inokulasikan kedalam media, kemudian inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan warna hijau pada media setelah ditambahkan media HCL 0,1 N sampai pada media berwarna kuning dan ditambahkan 5 tetes reagen FeCl₃ 10% .

7) Media fermentasi Karbohidrat

Isolat di inokulasikan kedalam media, kemudian inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam . hasil positif gula-gula ditandai dengan media dari warna biru menjadi warna kuning dan positif gas ditandai dengan kosongnya tabung durham.

g. Pemurnian bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di ambil sebanyak 1 ohse, di inokulasikan ke dalam media agar miring NA yang telah membeku secara aseptis dengan meletakkan jarum *ohse* yang mengandung biakan pada dasar kemiringan agar dan ditarik dengan gerakan zig-zag. Selanjutnya tabung di tutup dengan kapas dan di inkubasi dalam inkubator pada suhu inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

h. Sterilisasi alat dan bahan

Alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu. Dicuci bersih menggunakan sabun dan dikeringkan, untuk alat gelas di sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 170°C selama 15 menit. Pinset, jarum, dan ohse disterilkan dengan cara pemijaran dengan melewati pada api bunsen yang menyala selama 20 menit.

i. Pembuatan media

Media *Nutrien Agar* (NA) dibuat dengan cara timbang media *Nutrien Agar* (NA) 2,8 gr dan larutkan dalam 100 ml akuades kemudian panaskan di atas hotplate hingga homogen, kemudian sterilkan pada autoklafe suhu 121°C selama 1 jam guna menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan. Setelah sterilisasi, media dapat dituang secara aseptis pada cawan petri steril untuk penggunaan. Sebelum menuang media, tunggu hingga suam-suam kuku ($\pm 40^\circ\text{C}$) lalu dibiarkan pada suhu ruang hingga media memadat dengan sempurna (Oxoid, 2006).

j. Pembuatan suspensi bakteri

Langkah awal yang harus dilakukan adalah mengambil biakan bakteri dan dilarutkan dalam larutan salin (0,9% NaCl) secara aseptik. Tingkat kekeruhan suspensi dibandingkan dengan standard 0,5 McFarland secara visual. Suspensi bakteri ini yang selanjutnya digunakan untuk uji aktivitas, dan harus digunakan tidak lebih dari 30 menit setelah pembuatan (Andrews, 2006).

k. Uji daya hambat ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa* L)

Metode pengujian daya hambat menggunakan metode kirby & bauer yaitu dengan menggunakan media *nutrient agar*. Digunakan media *nutrient agar* supaya bagian belakang cawan petri dibagi menjadi enam dan diberi tanda menggunakan spidol. Kemudian inokulasi dengan kapas lidi steril dicelupkan kedalam suspensi bakteri yang sudah setara dengan neflometer *MC farland* di inokulasikan secara pertataan pada media na plate dan inkubasi pada suhu 37° C selama 15 menit. *Blank disk* dicelupkan ke dalam larutan ekstrak daun Srikaya pada masing-masing konsentrasi selama 1 menit, kemudian diletakkan dimedia NA dan inkubasi pada suhu 37° C.

Diameter zona bening atau radikal yaitu daerah disekitar *disk* dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, kemudian diukur menggunakan jangka sorong. Pembacaan jangka sorong dapat dilihat dari angka yang ditunjukkan pada skala utama yang tepat terletak sebelum angka nol skala nonius atau segaris dengan skala utama, lalu kalikan dengan angka ketelitian jangka sorong yang dipakai, kemudian jumlah angka yang didapat dari skala utama dan nonius.

I. Analisis data penelitian

Hasil penelitian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dianalisis menggunakan metode diskriptif yaitu melihat perbandingan masing-masing cakram uji yang mengandung kontrol negatif dan masing-masing seri

konsentrasi ekstrak etanol daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) yang berbeda dalam menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

J. Rencana Jadwal Penelitian

Tabel 2. Rencana Jadwal Penelitian

Tahap Penelitian	Urian Kegiatan	Waktu
Persiapan	Seminar proposal	Oktober 2020 – November 2020
	Studi pustaka	
	Optimasi alat	
	Pengambilan data	
Pelaksanaan	Orientasi penelitian	November 2020 – Januari 2021
	Pengumpulan data	
Penyelesaian	Analisis data	Februari 2021 – Maret 2021
	Pengumpulan laporan	
	Ujian tertutup	

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

1. Ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa L.*) tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Konsentrasi ekstrak etanol 96% daun Srikaya (*Annona squamosa L.*) tidak dapat menghasilkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

B. SARAN

1. Bagi peneliti

Selanjutnya untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan ekstrak daun Srikaya untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Bagi akademik

- a. Menambah referensi buku di perpustakaan agar mempermudah mahasiswa dalam melakukan Karya Tulis Ilmiah.
- b. Menambah referensi perpustakaan online dalam mencari jurnal atau mengakses jurnal sebagai dasar atau acuan untuk melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, J. M. (2006). Determination of Minimum Inhibitory Concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; 48; 5-16.
- Agustina,E. Berlian, Z,. And Fatiqin,A,. 2016.*Penggunaan Perasan Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Dalam menghambat Bakteri Escheria Coli Pada Bahan Pangan*, 2(1).
- Alex, S. 2015. *Sukses Mengolah Sampah Organik Menjadi Pupuk Organik*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- B. Anatashia, E. S. Fredine, and S. Standy, “Pola Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Ruang Perawatan Intensif Anak Di Rsup Prof. Dr. R. D. Kandou Manado,” *J. e-Biomedik*, vol. 3, no. 1, pp. 412–419, 2015. ‘
- Clinical and Laboratory Standards Institute., (2009). Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Test ;Approved Standard.10th ed. Pennsylvania.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Pedoman Pengendalian Penyakit Infeksi Saluran Pernafasan Akut, Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia*. Nomor 5. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia,p441-448..
- Erlita,P.,Sri,H.,Leni,R.D., 2018,Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (The Inhibition of Red Pomegranate Fruit Extract (*Punica granatum Linn*) on The Growth of *Staphylococcus aureus*), Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jember
- Ghosh, D., Dan Konishi, T. ,2007. *Anthocyanins and Anthocyannin-Rich Extract: Role in Diabetes and Eye Function*, Asia pac, *J. Clin Nurr*, 16(2),200-208.
- Hidayat, Syamsul dan Rodame M. Napitulu. 2015., *Kitab Tumbuhan Obat.*,Jakarta: agriflo.
- Kusnadi,2008, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermis*, *Jurnal Penelitian*, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung
- Lumbessy,M.,Jemmy,A.,Jessy,J.,. 2013. Uji Total Flavonoid Pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional Di Desa Waitina Kecamatan Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara,,Jurusan Kimia, FMIPA,Unsrat,,Manado.
- Lutpiatina,L., 2017, *Cemaran Staphylococcus aureus dan Pseudomonas Aeroginosa pada Stetoskop di Rumah Sakit*,Jurnal Teknologi Laboratorium,Banjarbaru.
- Manalu, L,P., Tambunan,A,,H,Nelwan,L,o.,.2012, *Penentuan Kondisi Proses Pengeringan Temulawak Untuk Menghasilkan Simplisia Standar*, Jakarta: Jurnal Dinamika Penelitian Industri Vol.23 No.2.

- M. Radji, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Jakarta: Buku Kedokteran EGC, 2011.
- Manoi, F. & Balitro. 2009. *Binahong (Anredera Cordifolia) Sebagai Obat*. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Mayasari,E. 2006. *Pseudomonas aeruginosa: Karakteristikm Infeksi dan Penanganan*.
- Mohan, M. 2013. *Determination of Andrographis Paniculata Extracts With and Without Human Serum By High Perfomance Thin Layer Chromatography. Int.Res. J Pharm. ISSN 2230-8047:41-49*
- Nurasiah, E. S. 2010. “*Pengoptimuman Ekstraksi Andrografolida dari Sambiloto dengan Rancangan Fraksional Faktorial*” (Skripsi). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nurheti Yuliarti. 2011. *1001 Khasiat Buah-Buahan*. Yogyakarta: ANDI. Hal 40- 51.
- Oxoid. 2006. *Manual Oxoid*. Edisi 9. Oxoid Limited : Bandung.
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia.2020.*Panduan Praktik Klinis:Pneumonia 2019-nCoV*.PDPI:Jakarta
- Pratiwi, D.A.N., (2014). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (Lawsonia Inermis L.) dan Bioautografi terhadap Bacillus subtilis dan Shigella sonnei*. Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Putri N,. 2019, *Uji Daya Hambat Daun Ekstrak Etanol Daun Matoa (Pometia pinnata) Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa*, Laporan Penelitian, Fakultas Farmasi STIKES NASIONAL, Surakarta.
- Ramadani,2016, *Senyawa Kimia Bahan Alam Terpenoid*. Jurnal Tarbaw,. 1(1) : 1-9.
- Rhidia, *Isolasi Dan Karakterisasi Triterpenoid Dari Fraksi N-Heksan Pada Kulit Batang Srikaya (Anonna squamosa L.)* ., Jurnal Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam,. Jurusan Kimia FMIPA., Universitas Andalas, 2013. Hal 71.
- Saxena,S.*et al* .2015. Bacterial colonization in patients with lover respiratory tract specimens: demographic profile nand microbiological pattern, *International Journal of Medical Science and Public Health*, 4 (11), p. 1498.doi:10.5455/ijmsph.2015.11052015309.
- Sembiring, B,. 2007. *Teknologi Penyiapan Simplisia Terstandar Tanaman Obat*. Balitro,. Bogor. Volume 13(2)
- Soeryoko H. 2011. *Kiat Pintar Memproduksi Kompos*. Yogyakarta : Andi Offset.
- Sudigdoadi S, 2007. *Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dan Waktu Kontak Ekstrak Bawang Putih (A. Sativum) Dibandingkan dengan Eugenol Terhadap S. Mutans Secara In Vitro*. JIK.1:30-5.

- Sunarjono, H. 2005. *Sirsak dan Srikaya, Budi Daya untuk Menghasilkan Buah Prima*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suryadi, B. U., Mita, F., Warih, P. L., Sri, W., 2018. *Uji Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium Bromide Terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Escheria coli*. Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia, Surakarta.
- Susanti, N. M. P., Warditiani, N. K., Laksmiani, N. P. L., Widjaja, I. N. K., Rismayanti, A. A. M. I. Wirasuta, I M. A. G.. 2010. *PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN REFLUKS TERHADAP RENDEMEN ANDROGRAFOLID DARI HERBA SAMBILOTO (Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees)* Bogor: Universitas Udayana.
- Soedarso, *Srikaya Buah Unik Pelindung Serangan Jantung*, Stomata: Surabaya, 2012
- Tansil, A. Y., Nangoy, A., Posangi, J., Bara, R. A. (2016). *Jurnal e-Biomedik Unsrat Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Srikaya (Annona squamosa) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. partemen Kimia FMIPA, Universitas Sumatera Utara.
- Tarigan, Juliato Br., Zahra C.F. dan Sihontang H. 2008. *Skrinning Fitokimia Tumbuhan Yang Digunakan Oleh Pedagang Jamu Gendong Untuk Merawat Kulit Wajah di Kecamatan Medan Baru*.
- Todar, K. 2009. *Opportunistik Infection Caused by Pseudomonas aeruginosa*. ([Http://textbookofbacteriology.net/Themicrobialword/ Pseudomonas.html](http://textbookofbacteriology.net/Themicrobialword/Pseudomonas.html)) Diakses pada tanggal 3 maret 2014.
- Togo, H., 2004, *Advanced Free Radical Reactions for Organic Synthesis*. Chiba: Japan.
- Wani, D. 2017, *Mekanisme Biomolekuler Pseudomonas aeruginosa dalam Pembentukan Biofilm dan Sifat Resistensi Terhadap Antibiotika*. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta.
- WHO, 2007. *Pencegahan dan Pengendalian Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) Yang Cenderung Menjadi Epidemi dan Pandemi di Fasilitas Pelayanan Kesehatan*. Pedoman Interim WHO. Alih Bahasa: Trust Indonesia. Jakarta
- Wink, M. (2008). *Ecological Roles of Alkaloids*. Wink, M. (Eds.) *Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology*, Wiley, Jerman: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Worotikan, D. E. 2011. *Efek Buah Lemon Cui (Citrus microcarpo) Terhadap Kerusakan Lipida Pada Ikan Mas (Cyprinus carpio L) Dan Ikan Cakalang (Katsuwonus pelamis) Mentah*. Skripsi. FMIPA UNSRAT, Manado
- Zhao, H. X., Zhang, H.s., AND Yang, S., F. 2014., *Phenolic Compounds And Its Antioxidant Activities in Ethanolic Extracts From Seven Cultivars Of Chinese Wellnes*, 3, 183-190. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fshw.2014.12.005>