



**PAPER – OPEN ACCESS**

## Test Activities Antibakteriekstrak Ethanol Young And Old Leaves Of The Soursop(*Annonamuricata* L.) Against *Staphylococcus aureus*

Author : Sudarmi  
DOI : 10.32734/st.v1i2.290  
Electronic ISSN : 2654-7082  
Print ISSN : 2654-7074

*Volume 1 Issue 2 – 2018 TALENTA Conference Series: Science & Technology (ST)*



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Published under licence by TALENTA Publisher, Universitas Sumatera Utara



# Test Activities Antibakteriekstrak Ethanol Young And Old Leaves Of The Soursop(*Annonamuricata L.*) Against *Staphylococcus aureus*

Dwi Latifah Sari<sup>a</sup>, Sudarmi<sup>a\*</sup>, Popi Patilaya<sup>a</sup>

*Departemen Kimia, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia*

## Abstrak

Plant soursop (*Annona muricata L.*) has been used for generations by some communities in Indonesia to treat the disease. Soursop leaves is used as an alternative treatment for cancer treatment, such as consume soursop leaves boiled water. In addition to the treatment of cancer, soursop plant is also used for the treatment of skin diseases such as boils. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of soursop leaves of young and old against *Staphylococcus aureus*, determine the content of secondary metabolites, and knowing the diameter of inhibitory young leaves and old leaves of soursop in inhibiting *staphylococcus aureus*.

Soursop leaves extracted by maceration using ethanol 96%. The extract obtained is then carried out phytochemical screening. Antibacterial activity test was conducted using disc the Kirby-Bauer diffusion. This study used 6 concentration of 500 mg / mL, 400 mg / mL, 300 mg / mL, 200 mg / mL, 100 mg / mL, 80 mg / mL, 60 mg / mL, 40 mg / mL, 20 mg / ml, 10 mg / ml and 1 mg / ml .. A positive control using soursop leaf extract of young and old while using a negative control DMSO 10%.

Based on phytochemical screening, ethanol extract of soursop leaves contain alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, steroids / triterpenoids and glycosides. The antibacterial activity of ethanol extract of leaves of young soursop higher inhibitory diameter than the ethanol extract of old soursop leaves. Can be seen at a concentration of 500 mg / ml is equal to 10.87 mm and 8.68 mm, the concentration of 400 mg / ml is equal to 9.15 mm and 7.3 mm, a concentration of 300 mg / ml is equal to 8.34 mm and 6, 30 mm, the concentration of 200 mg / ml is equal to 8.23 mm and 7.08 mm, a concentration of 100 mg / ml is equal to 6.32 mm and 6.18 mm and in a concentration of 80 mg / ml did not leave a diameter inhibitory to bacteria *staphylococcus aureus*. Young soursop leaf ethanol extract is more effective than the old soursop leaf extract against *Staphylococcus aureus*.

*Keywords:* *Annona muricata L.*, *Staphylococcus Aureus*; antibacterial

## 1. Pendahuluan

### 1.1. Latar Belakang

Tanaman sirsak (*Annona muricata L.*), yang juga dikenal dengan sebutan nangka sebrang merupakan tanaman tropis dan sudah tidak asing lagi bagi masyarakat Indonesia. Tanaman ini mempunyai manfaat besar bagi kehidupan manusia. Dalam industri makanan, sirsak dapat diolah menjadi selai buah, sari buah, sirup dan dodol sirsak [16].

Daun sirsak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tannin dan polifenol (Dian dkk, 2016). Selain itu digunakan juga untuk pengobatan beberapa jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri seperti pneumonia,

diare, infeksi saluran kemih dan beberapa jenis penyakit kulit karena ekstrak dari daun ini memiliki senyawa antibakteri [7].

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang sering terdapat pada kulit dan selaput lendir manusia. Bakteri ini dapat menjadi penyebab infeksi pada kulit. *Staphylococcus aureus* adalah patogen utama pada manusia. Hampir setiap orang pernah mengalami berbagai infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan [9].

Penelitian yang dilakukan oleh Melisa, Billy, dan Michael [11], mengenai uji daya hambat ekstrak daun sirsak terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dilakukan dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pucuk daun memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Faktor lingkungan dapat mempengaruhi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh daun. Pada daun yang masih muda, mengandung senyawa tannin yang merupakan senyawa yang bersifat antiseptic, sedangkan pada daun yang sudah tua kandungan senyawa acetogenins telah terbentuk. Senyawa inilah yang bersifat sitotoksik [11].

Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada daun muda dan tua terhadap bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus*. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan cakram kertas. Sebelumnya dilakukan pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol dan skrining fitokimia.

## 2. Metode Penelitian

### 2.1. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, aluminium foil, biosafety cabinet (Astec HLF 1200 L), blender (Philips), bunsen, cawan petri, desikator, cawan porselin, inkubator (Mettler), jangka sorong, jarum ose, kapas steril, kertas perkamen, kompor (Sharp), kurs porselin, lemari pendingin (Toshiba), lemari pengering, mikro pipet (Eppendorf), neraca analitik (Mettler AE 200), otoklaf (Fison), oven listrik (Fischer scientific), penangas air, pencadangan kertas, pinset, rak tabung, rotary evaporator (Haake D), spatula, tanur (Gallenkomp), vortex (Health H-MV-300), seperangkat alat destilasi penetapan kadar air.

### 2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air suling, etanol 96%, daun sirsak muda dan tua (*Annona muricata* L.), nutrient agar (Oxoid), nutrient broth (Oxoid), pencadangan kertas berdiameter 6 mm dan bahan-bahan yang berkualitas proanalisa (E. Merck):  $\alpha$ -naftol, amil alkohol, asam nitrat pekat, asam asetat anhidrat, asam klorida pekat, asam sulfat pekat, benzena, besi (III) klorida, bismuth nitrat, dimetilsulfoksida (DMSO), etilasetat, iodium, isopropanol, kalium iodida, kloroform, metanol, natrium hidroksida, natrium klorida, n-heksana, raksa (II) klorida, serbuk magnesium, timbal (II) asetat dan toluena. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*, suspensi standar Mc. Farland.

### 2.3. Penyiapan Sampel

Pengambilan bahan tumbuhan dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan tumbuhan yang sama dengan daerah lain. Bahan tumbuhan yang digunakan adalah daun sirsak muda dan tua. Bahan diambil dari daerah Binjai, Kelurahan Tanah Seribu, Kecamatan Binjai Selatan Kota Binjai, Provinsi Sumatera Utara pada bulan Februari 2017.

#### 2.4. Identifikasi Tanaman

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanense, Laboratorium Herbarium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sumatera Utara.

#### 2.5. Pengolahan Tanaman

Daun sirsak muda dan tua dipisahkan lalu dicuci bersih dari pengotoran dengan air sampai bersih dan ditiriskan. Kemudian dikeringkan di lemari pengering dengan suhu 40o - 50oC. Daun sirsak dianggap kering apabila sudah rapuh (diremas menjadi hancur), kemudian simplisia daun sirsak muda dan tua yang telah kering diserbuk menggunakan blender, dan disimpan dalam wadah plastik yang tertutup rapat [2].

#### 2.6. Karakterisasi Simplisia

Pemeriksaan ini meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, kadar air simplisia, kadar sari larut dalam air, kadar sari larut dalam etanol, kadar abu total, dan kadar abu yang tidak larut dalam asam.

#### 2.7. Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dari daun segar sirsak muda dan tua, simplisia daun sirsak muda dan tua, dan ekstrak etanol sirsak muda dan tua, meliputi pemeriksaan terhadap golongan senyawa alkaloida, flavonoida, glikosida, saponin, tanin dan steroida/triterpenoida [2].

#### 2.8. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak Muda dan Tua

Sebanyak 500 g serbuk simplisia dimaserasi dengan 75 bagian pelarut etanol 96% yang telah didestilasi, dimasukkan ke dalam bejana tertutup dan dibiarkan pada suhu kamar selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, kemudian setelah 5 hari hasil maserasi disaring dan diperas. Ampas ditambah dengan cairan penyari etanol teknis yang telah didestilasi hingga diperoleh 100 bagian maserat kemudian dibiarkan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari dan dienaptuangkan. Maserat digabungkan lalu diuapkan dengan alat rotary evaporator pada temperatur kurang lebih 40o C dan diperoleh ekstrak etanol kental [4].

#### 2.9. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri disterilkan terlebih dahulu sebelum dipakai. Alat-alat gelas yang mempunyai presisi dan media pertumbuhan bakteri disterilkan di autoklaf pada suhu 1210C selama 15 menit dan alat-alat gelas lainnya disterilkan didalam oven pada suhu 1700C selama 1 jam. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan menggunakan lampu bunsen [5].

#### 2.10. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Sirsak Muda dan Tua

Ekstrak etanol daun sirsak muda dan tua ditimbang 2 g kemudian dilarutkan dengan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO) hingga 10 ml maka konsentrasi ekstrak adalah 500 mg/ml. Larutan tersebut diencerkan kembali dengan

pelarut DMSO sehingga didapat konsentrasi 400 mg/ml; 300 mg/ml; 200 mg/ml; 100 mg/ml; 80 mg/ml; 60 mg/ml; 40 mg/ml; 20 mg/ml; 10 mg/ml; 1 mg/ml.

### 2.11. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak Muda dan Tua

Sebanyak 0,1 ml dari inokulum dimasukkan dalam cawan petri steril, kemudian dituang media nutrient agar sebanyak 15 ml dengan suhu 40o -50o C. Cawan petri digoyang di atas permukaan meja agar media dan suspensi bakteri tercampur rata dan dibiarkan memadat. Pecadang kertas yang telah direndam kedalam larutan uji pada berbagai konsentrasi, diletakkan di atas permukaan media padat yang telah diinokulasi bakteri, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 36 -37o C selama 18-24 jam, selanjutnya diameter daerah hambat disekitar pecadang kertas diukur dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali [5].

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Hasil Identifikasi Tanaman

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Medanese, Fakultas Biologi, Universitas Sumatera Utara menunjukkan bahwa sampel adalah benar daun Sirsak (*Annona muricata L.*).

### 3.2. Hasil Karakterisasi Simplisia

#### 3.2.1. Hasil pemeriksaan makroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik simplisia daun sirsak yaitu berwarna hijau muda sampai hijau kecoklatan, helai daun berbentuk lanset, memanjang runcing.

#### 3.2.2. Hasil pemeriksaan mikroskopik

Hasil pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia memperlihatkan adanya rambut kelenjar, stomata tipe anomositik, pembuluh spiral dan berkas pembuluh.

#### 3.2.3. Hasil pemeriksaan kadar air, kadar sari larut air, kadar sari laut etanol, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam.

Hasil pemeriksaan kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam dapat dilihat pada tabel 3.2 dan 3.3.

Tabel 3.2 Hasil pemeriksaan kadar air, kadar sari larut air, kadar sari laut etanol, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam serbuk simplisia daun sirsak muda.

No.	Parameter	Hasil (%)
1.	Kadar Air	7,98
2.	Kadar Sari Larut Air	26,18

3.	Kadar Sari Larut Etanol	20,32
4.	Kadar Abu Total	5,50
5.	Kadar Abu Tidak Larut Asam	1,32

Tabel 3.2 Hasil pemeriksaan kadar air, kadar sari larut air, kadar sari laut etanol, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam serbuk simplisia daun sirsak tua.

No.	Parameter	Hasil (%)
1.	Kadar Air	7,97
2.	Kadar Sari Larut Air	20,38
3.	Kadar Sari Larut Etanol	14,85
4.	Kadar Abu Total	5,33
5.	Kadar Abu Tidak Larut Asam	1,14

Penetapan kadar air pada simplisia dilakukan untuk mengetahui jumlah air yang terkandung dalam simplisia yang digunakan. Kadar air simplisia ditetapkan untuk menjaga kualitas simplisia karena kadar air berkaitan dengan kemungkinan pertumbuhan jamur/kapang. Hasil penetapan kadar air diperoleh lebih kecil dari 10% yaitu 7,98% (daun sirsak muda) dan 7,97% (daun sirsak tua). Kadar air yang melebihi 10% dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba, keberadaan jamur atau serangga, serta mendorong kerusakan mutu simplisia (WHO, 1998).

Penetapan kadar sari dilakukan menggunakan dua pelarut, yaitu air dan etanol. Penetapan kadar sari larut air adalah untuk mengetahui kadar senyawa kimia bersifat polar yang terkandung di dalam simplisia, sedangkan kadar sari larut dalam etanol dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa larut dalam etanol, baik senyawa polar maupun non polar. Hasil karakterisasi simplisia daun sirsak menunjukkan kadar sari yang larut dalam air sebesar 26,18% (daun sirsak muda) dan 20,38% (daun sirsak tua) sedangkan kadar sari yang larut dalam etanol sebesar 20,32% (daun sirsak muda) dan 14,85% (daun sirsak tua).

Penetapan kadar abu dimaksudkan untuk mengetahui kandungan mineral internal (abu fisiologis) yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri yang terdapat di dalam sampel (WHO, 1998).

Kadar abu tidak larut asam untuk menunjukkan jumlah silikat, khususnya pasir yang ada pada simplisia dengan cara melarutkan abu total dalam asam klorida (WHO, 1998). Penetapan kadar abu pada simplisia menunjukkan kadar abu total sebesar 5,50% (daun sirsak muda), 5,33% (daun sirsak tua) dan kadar abu tidak larut dalam asam sebesar 1,32% (daun sirsak muda), 1,14% (daun sirsak tua).

### 3.3. Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak mudadan tua dapat dilihat pada Tabel 3.4 dan 3.5.

Tabel 3.4 Skrining fitokimia daun segar, serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak muda.

No	Pemeriksaan	Daun Sirsak Muda		
		Daun Segar	Simplisia	Ekstrak Etanol
1	Alkaloid	+	+	+
2	Saponin	+	+	+
3	Tanin	+	+	+
4	Flavonoid	+	+	+
5	Glikosida	+	+	+
6	Steroid/triterpenoid	+	+	+

Tabel 3.4 Skrining fitokimia daun segar, serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak tua.

No	Pemeriksaan	Daun Sirsak Tua		
		Daun Segar	Simplisia	Ekstrak Etanol
1	Alkaloid	+	+	+
2	Saponin	+	+	+
3	Tanin	+	+	+
4	Flavonoid	+	+	+
5	Glikosida	+	+	+
6	Steroid/triterpenoid	+	+	+

#### 3.4. Hasil Uji Aktivitas antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak Muda Dan Tua

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak muda dan tua dapat dilihat pada Tabel 3.5.

Konsentrasi	Daya Hambat Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> *
-------------	---

	Daun Sirsak Muda	Daun Sirsak Tua
1	-	-
10	-	-
20	-	-
40	-	-
60	-	-
80	-	-
100	6,32±0,09	6,18±0,08
200	8,23±0,37	7,08±0,86
300	8,34±0,20	6,30±0,97
400	9,15±1,96	7,30±0,20
500	10,87±1,67	8,68±0,60

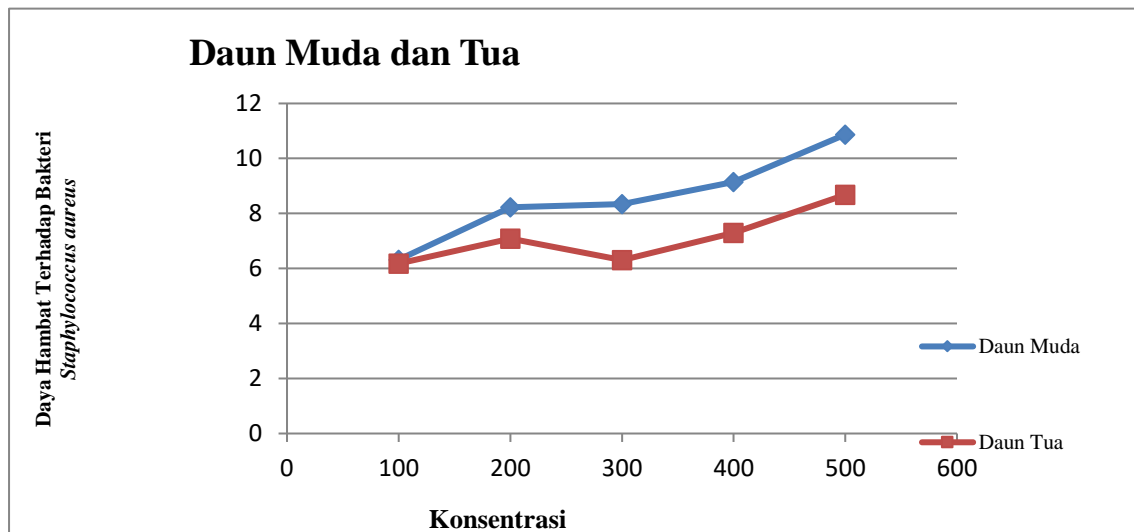
## Keterangan:

- \* = hasil rata-rata tiga kali pengukuran  
 - = tidak ada hambatan  
 Kontrol pelarut = Etanol 96%

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas antibakteri yang terlihat pada tabel diatas diperoleh konsentrasi hambat daun sirsak muda lebih tinggi dibandingkan dengan daun sirsak tua. Pada konsentrasi 80 mg/ml ekstrak daun sirsak muda dan tua tidak menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 100 mg/ml ekstrak daun sirsak muda memiliki diameter hambat sebesar 6,32 mm dan pada ekstrak daun sirsak tua memiliki diameter hambat sebesar 6,18 mm, konsentrasi 500 mg/ml ekstrak daun sirsak muda diameter hambat 10,87 mm sedangkan pada ekstrak daun sirsak tua diameter hambatnya 8,68 mm.

Namun perbedaan tersebut tidak signifikan dan hasil dari uji statistik didapatkan kesimpulan bahwa kedua data daun muda dan tua tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Dapat dilihat pada Grafik 3.6





Grafik 3.6 Grafik daun muda dan tua ekstrak etanol daun sirsak dengan besarnya daya hambat terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

Hasil pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh bahwa ekstrak daun sirsak, muda lebih besar daya hambatnya daripada ekstrak daun sirsak tua, namun tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Menurut peneliti daun sirsak dari Institut Teknologi Bandung, Prof. Soelaksono Sastrodiharjo PhD, daun ke-4 dan ke-5 dari pucuk merupakan daun yang paling berkhasiat. Dijelaskan pula bahwa kandungan asetogenin pada daun sirsak dapat dimanfaatkan untuk mengobati infeksi pada kulit yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus* (Sastrodiharjo et.al, 1997).

Selain itu, konsentrasi ekstrak juga sangat berpengaruh terhadap besarnya daya hambat terhadap bakteri uji. Dari data yang diuraikan di atas terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar pula daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri. Hal tersebut ditunjukkan oleh semakin besarnya diameter zona hambatan yang terbentuk yang menandakan bahwa aktivitas bahan uji terhadap mikroba semakin baik (Florakita, 2009).

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dengan beberapa mekanisme yang berbeda, antara lain flavonoid dapat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri, mikrosom dan lisosom. Struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan adanya perubahan komponen organik yang akan mengakibatkan timbulnya efek toksik dalam bakteri [14].

Beberapa faktor yang memengaruhi mutu ekstrak diantaranya yaitu faktor kimia seperti jenis dan jumlah senyawa kimia, metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Selain itu, adanya variasi biologis, misalnya tempat asal daun sirsak yang digunakan, juga dapat memengaruhi jumlah kandungan bahan aktif yang ada. Faktor-faktor lingkungan seperti suhu udara, kelembapan relatif, radiasi matahari, angin, suhu tanaman, ketersediaan air, ketercukupan cahaya dalam proses fotosintesis sangat memengaruhi fungsi fisiologis, bentuk anatomis, dan siklus hidup tumbuhan.

Faktor lingkungan inilah yang mungkin memengaruhi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh daun. Pada daun yang masih muda, mengandung zat-zat yang bersifat antibakteri, sedangkan pada daun yang sudah tua sudah mulai ada yang rusak, sehingga kandungan senyawa *acetogenins* telah terbentuk. Senyawa inilah yang bersifat sitotoksik [11].

Struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana, yaitu berlapis tunggal dengan kandungan lipid yang rendah (1 - 4%) sehingga memudahkan bahan bioaktif masuk ke dalam sel. Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks, yaitu berlapis tiga terdiri dari lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif antibakteri, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan dengan kandungan lipid tinggi (11 - 12%) [15].

## 4. Kesimpulan Dan Saran

### 4.1. Kesimpulan

Hasil penelitian yang dilakukan terhadap daun sirsak (*Annona muricata* L.) diperoleh kesimpulan:

- Serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak muda dan tua menunjukkan hasil positif pada alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid, saponin dan glikosida.
- Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak muda berbeda diameter hambatnya dibandingkan ekstrak etanol daun sirsak tua. Dapat dilihat pada konsentrasi 500 mg/ml yaitu sebesar 10,87 mm dan 8,68 mm, konsentrasi 400 mg/ml yaitu sebesar 9,15 mm dan 7,3 mm, konsentrasi 300 mg/ml yaitu sebesar 8,34 mm dan 6,30 mm, konsentrasi 200 mg/ml yaitu sebesar 8,23 mm dan 7,08 mm, konsentrasi 100 mg/ml yaitu sebesar 6,32 mm dan 6,18 mm sedangkan pada konsentrasi 80 mg/ml tidak memberikan diameter hambat terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. Namun perbedaan tersebut tidak signifikan dan hasil dari uji statistik didapatkan kesimpulan bahwa kedua data daun muda dan tua tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

### 4.2. Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya :

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui secara lengkap kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun sirsak berdasarkan urutan daunnya.

## Referensi

- [1] Depkes RI. (1977). *Materia Medika Indonesia*. Jilid Kesatu. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 85-89.
- [2] Depkes RI. (1995). *Materia Medika Indonesia*. Jilid Kelima. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 333-337.
- [3] Difco, dan BBL Manual. (2009). *Manual of Microbiological Culture Media*. Edisi II. Sparks: Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle. Halaman: 398, 402.
- [4] Ditjen POM. (1979). *Farmakope Indonesia*. Edisi Ketiga. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman: 9, 32, 896.
- [5] Ditjen POM. (1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman: 7, 891 - 898, 1035.
- [6] Farnsworth, N.R. (1966). *Biological and Phytochemical Screening of Plants*. *Journal of Pharmaceutical Science*. 55(3): 225-276.
- [7] Gajalakshmi, S., Vijayalakshmi, S., dan Devi, R.V. (2012). *Phytochemical and Pharmacological Properties of Annona muricata: A Review*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(2): 5
- [8] Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia*. Edisi Kedua. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB. Halaman: 6, 48-49, 240.
- [9] Jawet, E., Joseph, M., Edward, A.A., Geo, F.B., Janet, S.B., dan Nicholas, L.D. (2001). *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerjemah: Mudihardi, E., Kuntaman., Wasito., Mertamiasih, M., Harsono, S., dan Alimsardjono., L. Jakarta: Salemba Medika. Halaman: 357.
- [10] Lay, B.W., dan Sugiyo, H. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta : PT. Raja Grafindo Persada. Halaman 34, 72-73.
- [11] Melisa, R.T., Billy, J.K., dan Michael, A.L., (2015). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4 (4) : 69.
- [12] Merck. (2005). *Merck Microbiology Manual*. Edisi XII. Berlin: Merck. Halaman: 370-371.
- [13] Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi IV. Jakarta: EGC. Halaman: 193.
- [14] Sabir, (2005). Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona* sp. Terhadap bakteri *S. mutans*. (in vitro). *Majalah Kedokteran Gigi*. 38 (3). 135-141.
- [15] Volk, W.A., dan Wheeler, M.F. (1993). *Mikrobiologi Dasar*. Jilid I. Jakarta: Erlangga. Halaman: 33-40, 218-219.
- [16] Warisno, S., dan Dahana, K. (2012). *Daun Sirsak Langkah Alternatif. Menggempur Penyakit*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama. Halaman: 2, 7,21, 24.
- [17] World Health Organization. (1998). *Quality Control Methods for Medicinal Plant Material*. Swittherland: WHO. Halaman: 27-30.