

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRSAK  
(*Annona muricata L*) TERHADAP BAKTERI  
*Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa*  
DAN *Vibrio alginolyticus***

**OLEH**

**RISTINA  
NPM 174310302**

**SKRIPSI**

*Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Perikanan*



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU  
PEKANBARU  
2022**

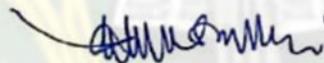
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRSAK  
(*Annona muricata L*) TERHADAP BAKTERI  
*Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa*  
DAN *Vibrio alginolyticus***

**SKRIPSI**

**NAMA : RISTINA**  
**NPM : 174310302**  
**PROGRAM STUDI : BUDIDAYA PERAIRAN**

KARYA ILMIAH INI TELAH DIPERTAHANKAN DALAM UJIAN  
KOMPRESIF YANG DILAKSANAKAN PADA TANGGAL 29 JUNI 2022  
DAN TELAH DISEPAKATI  
KARYA ILMIAH INI MERUPAKAN SYARAT PENYELESAIAN STUDI  
PADA FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS ISLAM RIAU

**MENYETUJUI :**  
**DOSEN PEMBIMBING**



**Dr. JAROD SETIAJI, S.Pi, M.Sc**  
**NIDN : 1016066802**

**DEKAN FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU**



**Dr. Ir. H. SITI ZAHRAH, MP**  
**NIDN : 0013086004**

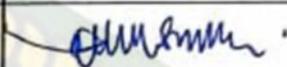
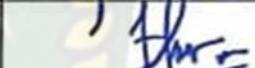
**KETUA PROGRAM STUDI  
BUDIDAYA PERAIRAN**



**Dr. JAROD SETIAJI, S.Pi, M.Sc**  
**NIDN : 1016066802**

**KARYA ILMIAH INI TELAH DIPERTAHANKAN DALAM UJIAN  
KOMPREHENSIF FAKULTAS PERTANIAN  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU**

**TANGGAL : 29 JUNI 2022**

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc	Ketua	
2.	Ir. T. Iskandar Johan, M.Si	Anggota	
3.	Ir. Fakhrunnas, MA. Jabbar, M.I.Kom	Anggota	
4.	Hisra Melati, S.Pi, M.Si	Notulen	

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Pertanian  
Universitas Islam Riau

  
**Dr. Ir. Hj. SITI ZAHRAH, MP**  
NIDN : 0013086004

## BIOGRAFI PENULIS



Penulis dilahirkan di Guntung, 26 Maret 2000 dari pasangan Bapak M.Arsyad dan Ibu Andi Nur Alang. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara. Pendidikan penulis diawali pada tahun 2006 di SDN 024 Sanglar Kec. Reteh, Kabupaten Indragiri Hilir, Riau dan lulus pada tahun 2011. Pada tahun 2011-2014 penulis menyelesaikan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 03 Reteh Desa Sanglar Kec. Reteh, Kabupaten Indragiri Hilir, Riau. Pada Tahun 2014-2017 penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 01 Reteh Kec. Reteh, Kabupaten Indragiri Hilir, Riau. Kemudian Pada tahun 2017-2022 penulis melanjutkan ke Perguruan Tinggi Program Strata 1 (S1), dengan jurusan yang diambil yaitu Budidaya Perairan di Universitas Islam Riau (UIR) Kec. Bukit Raya Kota Pekanbaru. Atas izin Allah SWT, pada Tanggal 05 Juli 2022 penulis berhasil menyelesaikan pendidikan Strata 1 (S1) yang dipertahankan dalam Ujian Komprehensif pada sidang meja hijau dan sekaligus berhasil meraih gelar Sarjana Perikanan Strata 1(S1) dengan judul penelitian “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata L*) Terhadap Bakteri *Aeromonas Salmonicida*, *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Vibrio Alginolyticus*”, di bawah bimbingan Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi. M.Sc.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Puji Syukur Kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya yang telah memberikan kesehatan jasmani dan rohani sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan sampai kepada penyusunan Skripsi ini. Skripsi ini merupakan syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Budidaya Perairan Universitas Islam Riau (UIR). Skripsi ini mengkaji tentang “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata L*) Terhadap Bakteri *Aeromonas Salmonicida*, *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Vibrio Alginolyticus*. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih atas do’a, bantuan dan dukungan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kepada Kedua Orang tua saya ibu Andi Nuralang dan bapak M. Arsyad terimakasih do’a yang selalu engkau panjatkan untukku, terimakasih atas dukungan yang telah kau berikan dalam usahaku menggapai salah satu cita-citaku menjadi seorang sarjana. Gelar yang aku dapatkan ini aku persembahkan untuk kalian berdua bidadari surgaku, semoga ini bisa menjadi salah satu kebanggaan bagimu dariku. Tidak lupa kepada Adik-adik yang kakak sayangi yaitu Alfian dan M. Rasyid terimakasih juga sudah menjadi adik-adik yang baik yang menjadi kebanggaan mamak, bapak dan juga kakak, semoga kita bisa menjadi anak-anak yang terbaik dimata orang tua, keluarga serta menjadi kebanggaan mereka. Amiin.
2. Prof. Dr. H. Syafrinaldi, SH., MCL. Selaku Rektor Universitas Islam Riau.
3. Dr. Ir. Hj. Siti Zahrah, MP selaku Dekan Fakultas Pertanian.
4. Dr. jarod Setiaji, S.Pi., M.Sc selaku Dosen , Selaku dosen pembimbing yang selalu dengan sabar membimbing, memotivasi serta menjelaskan

- kesalahan dalam penulisan agar disempurnakan dalam skripsi ini dan juga selaku Ketua program Studi Budidaya Perairan. Sri Ayu Kurnianti. SP., M.Si selaku Sekretaris Jurusan Budidaya Perairan yang mempermudah dalam pengurusan surat dan hal lainnya.
5. Ir. T. Iskandar Johan, M.Si selaku Dosen dan Penguji Skripsi yang memberi masukan dan mengoreksi dalam penulisan.
  6. Muhammad Hasby, S.Pi., M.Si selaku Dosen yang telah memberikan motivasi kepada saya serta masukkan ide pada penyusunan, penulisan skripsi ini.
  7. Ir. H. Rosyadi, M.Si selaku Dosen Universitas Islam Riau.
  8. Dr. Ir. Agusnimar, M.Sc selaku Dosen Universitas Islam Riau.
  9. Ir. Fakhrunnas, MA. Jabbar, M.I.Kom selaku Dosen dan Penguji Skripsi yang memberi masukan dan mengoreksi dalam penulisan.
  10. Hisra Melati, S.Pi, M.Si selaku Kepala Labor Perikanan dan Valentio Febrian Prakoso, S.Si selaku asisten laboratorium yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.
  11. Dr. Fathurrahman, SP, M.Sc selaku Wakil Dekan I bidang Administrasi dan Kemahasiswaan.
  12. Terimakasih kepada Rahman Fauzi, S.Pi selaku Pengurus Balai Benih Ikan (BBI) Universitas Islam Riau (UIR).
  13. Terimakasih juga kepada keluarga kedua saya mama Rosmiati, papa Ruslan Suman, buk koordinator Eka Hospital yaitu Rika Rosnilam, dan adik-adik saya Syahratul Aini dan Assyffa Oktovia Suhuda yang telah memberi semangat dan bulian agar cepat mendapatkan gelar sarjana.

14. Terimakasih banyak kepada Rudy Saputra S.Pi Orang Special yang telah membantu dan membimbing saya serta memberikan dukungan dalam penyelesaian skripsi saya.
15. Terimakasih Kepada Warga Kos Bone Petak 1 Nur Fadilla S.Km, Jusma Wati S.E, Dian Saputri S.Ip, dan Raodatul Jannah yang akan Mendapatkan Gelar ( S.Ip Coming soon :P ).
16. Terimakasih Juga kepada Saudara Nurul Fauziana, Ratika Putri, Nurman Alvian, Syawal Maulana Wijaya, Kevin Mahesa. M, Japri Yunus yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini baik materi atau yang lainnya.
17. Dan tidak lupa pula Terimakasih banyak kepada Teman-teman seperjuangan yang telah mengkritik dan membuat saya bisa mengoreksi diri agar bisa menjadi lebih baik lagi.

## ABSTRAK

**RISTINA (174310302) “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata L*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Vibrio alginolyticus*”**. Dibawah bimbingan Dr. Jarod Setiaji, S.Pi. M.Sc. Penelitian ini mulai pada bulan Oktober 2021 di Balai Benih Ikan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau Pekanbaru. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak dan konsentrasi yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun sirsak, bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*, Metanol, NB, Etil, NA, Kertas cakram dan Aquades. Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan dengan P1 konsentrasi ekstrak 10%, P2 konsentrasi ekstrak 20%, P3 konsentrasi ekstrak 30%, P4 konsentrasi ekstrak 40%, P5 konsentrasi ekstrak 50%. Hasil penelitian ini adalah Daun Sirsak (*A. muricata L*) mengandung senyawa alkaloid, fenolik, terpenoid/steroid dan flavonoid. Kemudian daya hambat ekstrak daun Sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida* pada konsentrasi 10% sampai 30% dengan kategori sedang dan konsentrasi 40% sampai 50% dengan kategori kuat. Daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus* pada konsentrasi 10% sampai 20% dengan kategori sedang dan konsentrasi 30% sampai 50% termasuk kategori kuat.

Kata Kunci : Ekstrak, Sirsak, *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. Alginolyticus*

## KATA PENGANTAR

Puji beserta syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L*) Terhadap Bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*” pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi., M.Sc., dan teman-teman yang telah memberikan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis telah berusaha semaksimal mungkin dalam menulis skripsi ini, namun jika ditemukan kekurangan, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaannya. Atas partisipasinya penulis mengucapkan terima kasih.

Akhir kata dengan diiringi doa, penulis berharap mudah-mudahan maksud dan tujuan dari penyajian skripsi ini dapat tercapai. Aamiin.

Pekanbaru, Juli 2022

Penulis

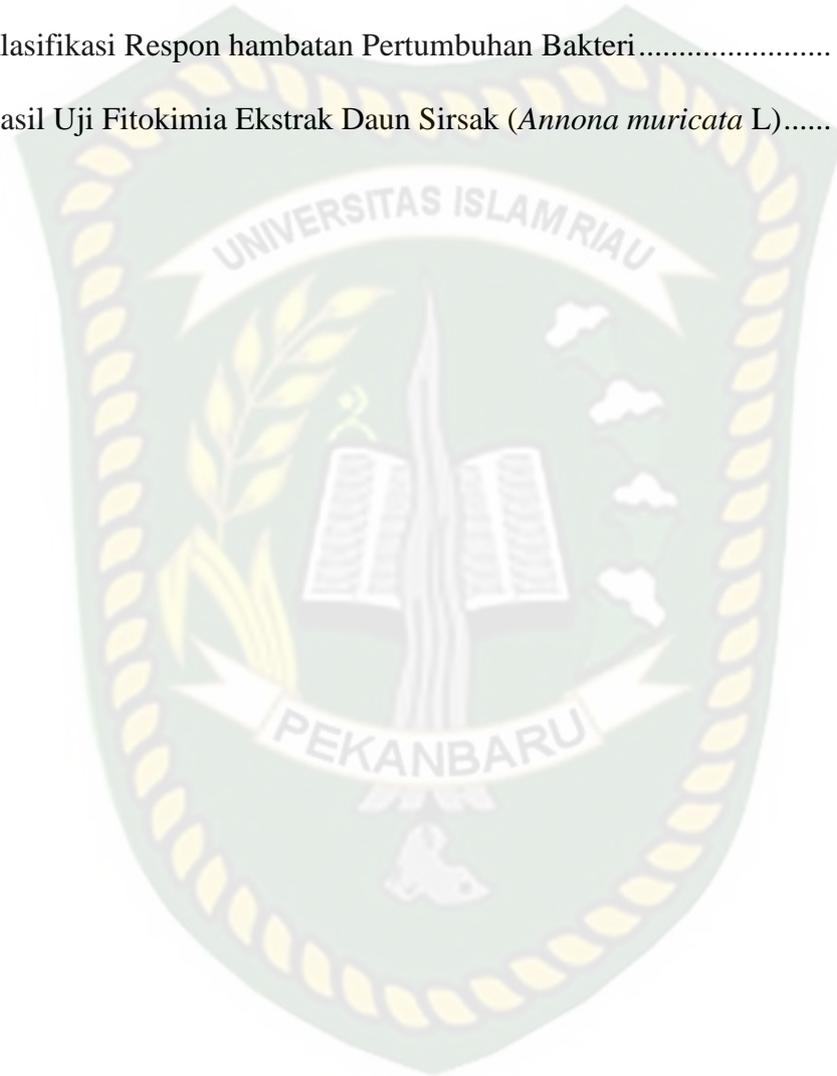
## DAFTAR ISI

Isi	Hal
<b>BIOGRAFI PENULIS</b> .....	i
<b>UCAPAN TERIMAKASIH</b> .....	ii
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Batasan Masalah.....	3
1.4. Tujuan Penelitian.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1. Daun Sirsak ( <i>Annona muricata L</i> ) .....	5
2.2. Kandungan Daun Sirsak ( <i>Annona muricata L</i> ).....	6
2.3. Proses Ekstraksi .....	7
2.4. Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	10
2.5. Bakteri Patogen.....	12
2.5.1. <i>Aeromonas salmonicida</i> .....	12
2.5.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
2.5.3. <i>Vibrio alginolyticus</i> .....	16
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	18
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	18
3.2.1. Alat Penelitian.....	18
3.2.2. Bahan Penelitian .....	19
3.3. Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri .....	20
3.4. Rancangan Penelitian.....	20
3.5. Prosedur Penelitian .....	21
3.5.1. Pengambilan Sampel Daun Sirsak ( <i>Annona muricata L</i> )..	21
3.5.2. Ekstraksi dan Fraksi Daun Sirsak ( <i>Annona muricata L</i> )...	21
3.5.3. Pembuatan Konsentrasi Suspensi Ekstraksi Daun Sirsak ( <i>Annona muricata L</i> ). .....	22

3.5.4. Sterilisasi Alat dan Bahan .....	23
3.5.5. Peremajaan Bakteri Patogen.....	23
3.5.6. Kultur Bakteri Patogen Pada Nutrient Broth (NB).....	24
3.5.7. Uji Aktivitas Antibakteri .....	25
3.5.8. Uji Fitokimia .....	27
3.5.8.1. Uji Flavonoid.....	27
3.5.8.2. Uji Alkaloid.....	28
3.5.8.3. Uji Tanin.....	28
3.5.8.4. Uji Saponin.....	28
3.6. Hipotesis dan Asumsi .....	28
3.7. Analisa Data .....	29
<b>IV. HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>30</b>
4.1. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L ) .....	30
4.2. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L ) ...	32
4.2.1. Bakteri <i>Aeromonas salmonicida</i> .....	33
4.2.2. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	34
4.2.3. Bakteri <i>Vibrio alginoliticus</i> .....	36
4.3. Mekanisme Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L ).....	37
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>39</b>
5.1. Kesimpulan .....	39
5.2. Saran.....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>

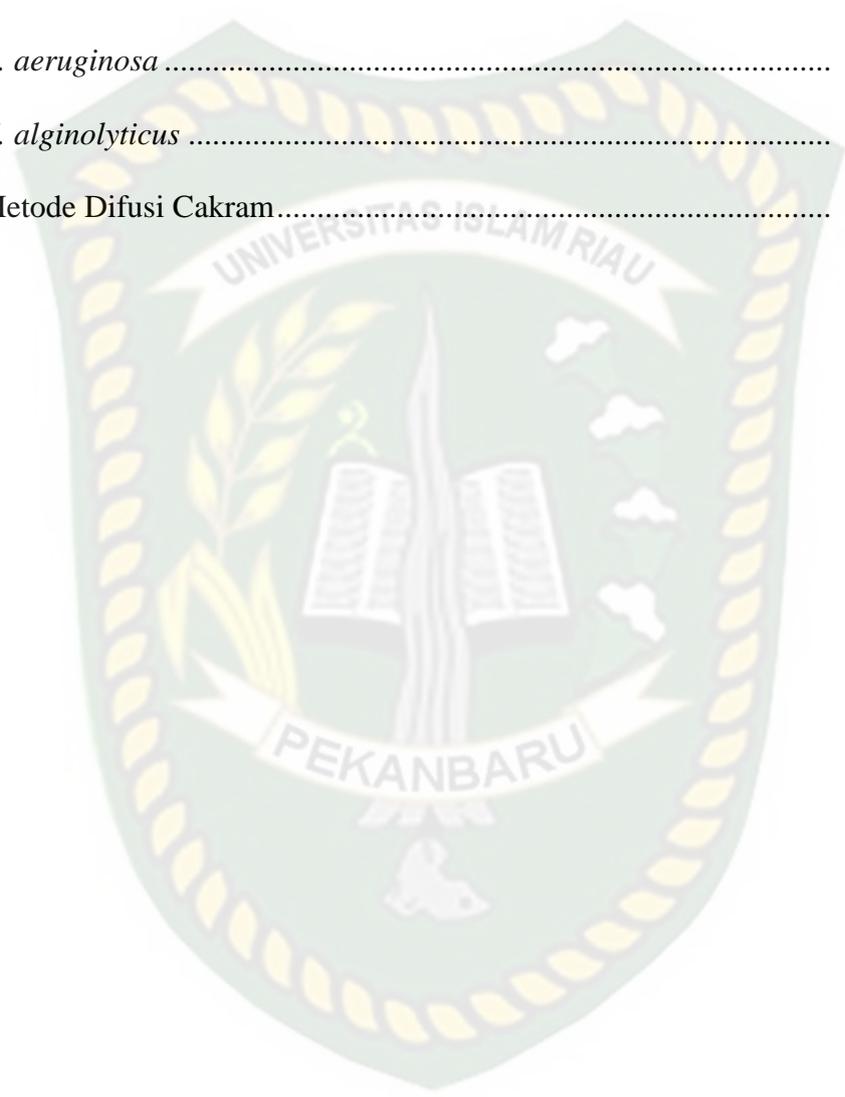
## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
3.1. Alat Penelitian.....	18
3.2. Bahan Penelitian.....	19
3.3. Klasifikasi Respon hambatan Pertumbuhan Bakteri.....	27
4.1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L).....	30



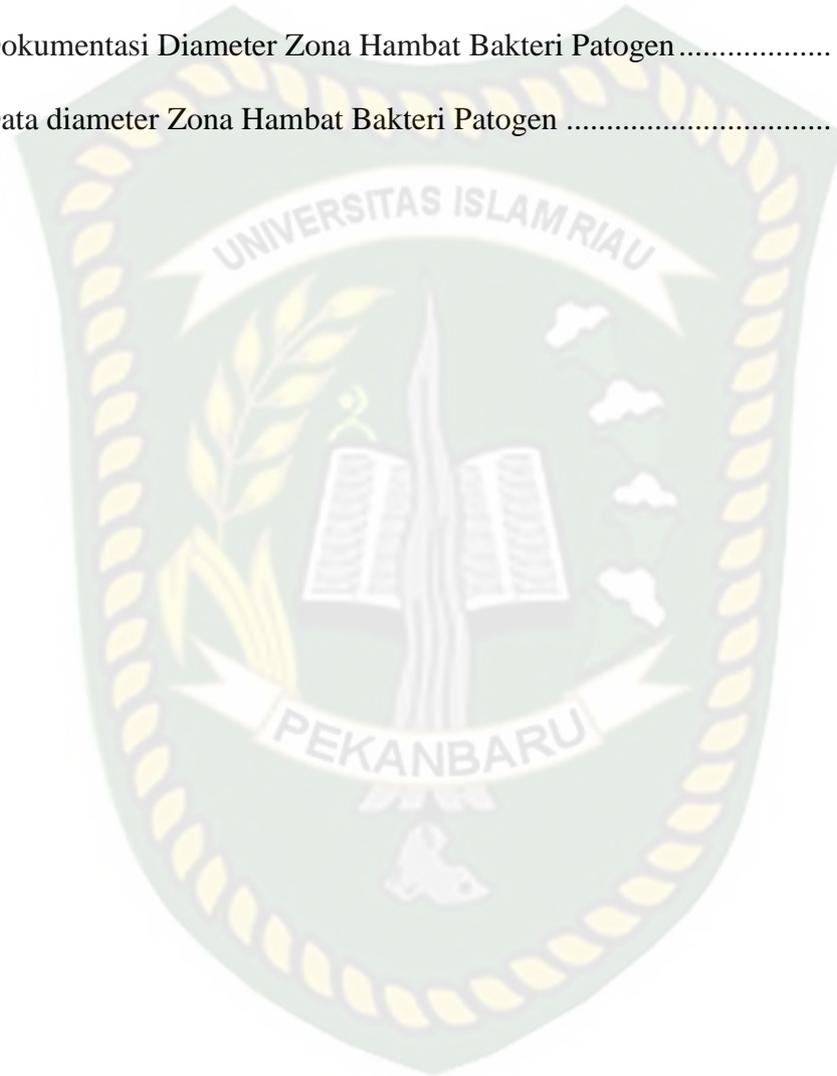
## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L).....	5
2. <i>A. salmonicida</i> .....	13
3. <i>P. aeruginosa</i> .....	15
4. <i>V. alginolyticus</i> .....	17
5. Metode Difusi Cakram.....	27



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	46
2. Prosedur penelitian.....	47
3. Dokumentasi Diameter Zona Hambat Bakteri Patogen.....	48
4. Data diameter Zona Hambat Bakteri Patogen .....	50



## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Usaha budidaya perikanan memiliki potensi yang sangat besar dalam bagian ekonomi. Pada usaha budidaya perikanan resiko yang akan di hadapi cukup besar, dikarenakan ikan merupakan makhluk hidup dan dapat mengalami kematian. Kematian yang terjadi dapat disebabkan oleh usia ikan, kondisi lingkungan hidupnya dan serangan penyakit.

Salah satu masalah yang sering dijumpai pada kegiatan usaha budidaya ikan adalah serangan penyakit. Serangan penyakit pada ikan disebabkan oleh bakteri yang menjadikan suatu kendala yang sering terjadi pada usaha budidaya perikanan (Sudarno dkk., 2012). Penyakit ikan adalah sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan baik itu secara langsung ataupun tidak langsung. Salah satu patogen yang menyebabkan timbulnya penyakit pada ikan adalah bakteri. Bakteri adalah organisme yang sering ditemukan di lingkungan perairan, tidak memiliki membran inti sel dan ukuran yang sangat kecil.

Menurut Novriadi *et al.*, (2014) bakteri adalah organisme yang paling umum didapati di lingkungan perairan serta morfologi yang beragam serta ekologi dan fisiologi yang cukup tinggi. Sebagian besar bakteri patogen pada budidaya ikan memiliki sel yang berbentuk batang pendek dan bersifat gram negatif. Adapun jenis bakteri yang menjadi penyebab utama penyakit infeksi pada ikan antara lain: *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*. Menurut (Rantam, 2003) manajemen budidaya yang kurang baik dapat menimbulkan penyakit dan menyebabkan kematian massal pada ikan nila hingga 100% jika dalam pengelolaan budidaya yang tidak baik.

Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan nila yaitu *Aeromonas* sp, *Aeromonas salmonicida* dan *Aeromonas hydrophila*. *A. Salmonicida* merupakan bakteri patogen yang menyebabkan timbulnya penyakit peradangan pada bagian kulit yang terinfeksi secara akut maupun kronis yang biasa disebut dengan furunculosis.

Infeksi oleh *P. aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi pada luka, infeksi pada traktus urinari, diare, telinga dan organ genital. Bakteri ini dapat mengalami peningkatan jika terkombinasi dengan infeksi *Streptococcus* dan *Staphylococcus* (Carter and Wise 2004). Reed *et al.*, (2002) menyatakan bahwa penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sering terjadi pada budidaya ikan/udang yang berasal dari perairan laut, estuaria dan perairan tawar. Serangan penyakit oleh bakteri *Vibrio* dapat menyebabkan tingkat mortalitas yang tinggi pada usaha budidaya udang.

Dalam penanggulangan penyakit pada usaha budidaya perikanan umumnya menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik ini sudah dilarang dikarenakan dapat menyebabkan timbulnya efek resisten pada bakteri patogen serta lingkungan menjadi tercemar. Penggunaan antibiotik pada jenis ikan konsumsi dapat meninggalkan residu pada tubuh inangnya, sehingga tidak aman jika dikonsumsi oleh manusia. Oleh karena itu diperlukan alternatif lain dalam penanggulangan penyakit pada ikan yang lebih ramah lingkungan dan efek resisten terhadap bakteri tidak terjadi (Kamaludin, 2011).

Oleh karena itu dalam penanggulangan penyakit sebaiknya menggunakan bahan-bahan alami yang berasal tanaman, keuntungan dari penggunaan tanaman yaitu ramah lingkungan, pengganti antibiotik, ekonomis dan mudah didapat.

Tanaman yang terbukti efektif untuk digunakan sebagai alternatif pengobatan penyakit yaitu daun sirsak ( *A. muricata*. L ). Daun sirsak yang mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid ini berpotensi sebagai bahan untuk mencegah penyakit infeksi bakteri (Permatasari dkk., 2013). Hal ini menandakan bahwa tanaman daun sirsak dapat digunakan sebagai antimikroba terutama pada bakteri.

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin meneliti aktivitas bakteri tumbuhan daun sirsak terhadap bakteri patogen yang belum diteliti yaitu *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*.

### **1.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*
2. Berapakah konsentrasi ekstrak daun sirsak yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*

### **1.3. Batasan Masalah**

Batasan masalah yang terdapat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*.

#### 1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun sirsak yang baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*

#### 1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat perikanan bahwa ekstrak daun sirsak dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*
2. Sebagai bahan rujukan dan pertimbangan bagi peneliti selanjutnya agar dapat menghasilkan penelitian yang lebih maksimal dan relevan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Daun Sirsak (*Annona muricata* L)

Menurut (Sunarjono, 2005) klasifikasi dari tumbuhan daun sirsak adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Polycarpiceae F
Amilia	: Annonaceae
Genus	: Annona
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L.



Gambar 1. Daun Sirsak (*Annona muricata* L) (Dokumentasi Pribadi)

Secara morfologi Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman tumbuhan tropis yang bersifat tahunan. Dengan ciri-ciri batang coklat berkayu, bulat, bercabang, daun berbentuk telur, ujung runcing, tepi rata, pangkal meruncing, pertulangan menyirip, panjang tangkai 5 mm, hijau kekuningan.

Memiliki tinggi sekitar 3-10 meter, ukuran daun sekitar 8-16 cm x 3-7 cm. Tangkai daun memiliki panjang 3-7 mm, bunga terletak pada bagian batang atau ranting. Daging dari buah sirsak berwarna putih dan memiliki bentuk biji yang bulat berwarna coklat kehitaman. Akar dari tanaman sirsak adalah akar tunggang berwarna coklat muda (Hidayat dan Silvy, 2011).

## **2.2. Kandungan Daun Sirsak ( *Annona muricata* L )**

Batang dan daun sirsak memiliki kandungan zat *annonaceous acetogenins* yang aktif dalam melawan sel kanker, selain dari zat *annonaceous acetogenin* yang terkandung didalam batang dan daun sirsak, juga terkandung senyawa flavonoid, Tanin, dan saponin pada ekstrak air dari daun sirsak, yang dapat menghambat pertumbuhan tumor. Selain dari sifat anti kanker tumbuhan sirsak juga memiliki sifat anti jamur, anti bakteri dan sangat efektif dalam melawan berbagai jenis parasit atau cacing, bahkan sirsak juga dapat digunakan dalam mengobati tekanan darah tinggi, stress dan depresi (Komansilan dan Alfarits, 2012).

Khasiat yang diperoleh dari buah sirsak dikarenakan kandungan fitokimia yang ada di dalamnya. Kandungan fitokimia tersebut yaitu *acetogenin*, flavonoid, alkaloid, dan yang lainnya. Senyawa *Annonaceous acetogenin* hanya dapat ditemukan pada family *Annonaceae*. *Annonaceous acetogenin* telah diketahui berkhasiat pesticidal, anti tumor, antiparasitic, antihelminthic, antiprotozoal dan antimicrobial. *Annonaceous acetogenin* adalah kelompok fitokimia yang memiliki kandungan poliketida (Taylor, 2002).

## **2.3. Proses Ekstraksi**

Menurut Berk (2009) ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan berdasarkan dari kelarutan bahan, proses ekstraksi ada dua perbedaan kelarutan

bahan. Ekstrak disaring menggunakan kain saring agar ampas dan filtratnya menjadi terpisah (Anditasari *et al.*, 2014). Menurut Rahayu (2009) ekstraksi merupakan pemisahan dari suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil suatu zat terlarut dari satu pelarut ke pelarut lainnya.

Menurut Departemen Kesehatan III (1979) menyatakan bahwa ekstrak merupakan sediaan kering, cair maupun kental, dengan cara penyaringan simplisia nabati atau hewani diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Cara ekstraksi ada dua yaitu dengan cara panas dan dingin. Ekstraksi dengan cara panas seperti reflux, soxhlet, digest, infusa, dan dekokta kemudian dengan cara dingin seperti maserasi dan perkolasi.

Sedangkan menurut Aisyah (2015) ekstrak merupakan suatu proses pencarian zat-zat yang berkhasiat atau zat-zat yang aktif dari bagian tanaman obat hewan, dan beberapa jenis ikan termasuk juga dari biota laut. Zat-zat aktif yang ada di dalam sel, baik itu sel tanaman maupun sel hewan memiliki ketebalan yang berbeda-beda, sehingga dibutuhkan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu untuk mengekstraknya.

Mukhriani (2014) menjelaskan bahwa dalam pembuatan ekstrak pada bahan yang berasal dari tumbuhan memiliki tahapan sebagai berikut:

1. Pengelompokan dari bagian tumbuhan (daun, batang, bunga, dan yang lainnya), pengeringan dan penggililngan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut, hal ini digunakan untuk memisahkan zat aktif. Pelarut akan dipilih secara selektif tergantung pada zat aktif yang diharapkan.

3. Pemisahan dan pemurnian merupakan pemisahan zat aktif yang diharapkan sehingga didapatkan ekstrak murni.
4. Pengeringan ekstrak, untuk menghilangkan pelarut dari bahan lainnya sehingga menghasilkan massa kering keruh.
5. Rendemen yaitu perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

Irianty *et al.*, (2012) menyatakan bahwa dalam proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh suhu, jenis pelarut, waktu ekstraksi, ukuran partikel dan metode dalam ekstraksi.

### **Maserasi**

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada temperatur ruangan. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat memiliki khasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Maserasi merupakan cara ekstraksi paling sederhana (Istiqomah, 2014).

Menurut Simanjuntak (2008) dalam metode ekstraksi pada umumnya yang digunakan adalah metode maserasi. Metode maserasi sering digunakan karena prosedur dan peralatannya yang sederhana. Adapun permasalahan pada metode maserasi yaitu banyaknya pelarut yang digunakan dan waktu yang cukup lama dalam mengekstrak bahan baku. Mukhriani (2014) menyatakan bahwa metode maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar.

## Pelarut

Menurut Ardydi (2013) berdasarkan polaritas pelarut, pelarut terbagi menjadi tiga kategori yaitu :

### 1. Pelarut Protik Polar

Protik menunjukkan atom hydrogen yang menyerang atom elektronegatif adalah oksigen. Dengan kata lain pelarut protik polar merupakan senyawa yang memiliki rumus umum ROH. Contoh dari pelarut protik polar adalah air ( $H_2O$ ), metil ( $CH_3OH$ ), dan asam asetat ( $CH_3COOH$ ).

### 2. Pelarut Aprotik

Polar aprotik menunjukkan molekul yang tidak mengandung ikatan O-H. pelarut dalam kategori ini semuanya memiliki ikatan dipol yang besar. Contoh dari pelarut ini adalah aseton ( $C_3H_6O$ ) dan etil asetat ( $C_4H_8O_2$ ).

### 3. Pelarut Non-Polar

Pelarut nonpolar merupakan suatu senyawa yang memiliki konstanta dielektrik yang rendah dan tidak larut air. Contoh pelarut dari kategori ini adalah benzene ( $C_6H_6$ ), karbon tetraklorida ( $CCl_4$ ), dan etil eter ( $CH_3CH_2OCH_2CH_3$ ).

## 2.4. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri merupakan teknik yang digunakan untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi dari suatu senyawa yang dapat memberikan efek bagi mikroorganisme. Kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti : (1) konsentrasi zat antimikroba, (2) waktu penyimpanan, (3) suhu lingkungan, (4) sifat-sifat mikroba, meliputi jenis, jumlah, umur, dan keadaan mikroba, (5) sifat-

sifat fisik dan kimia makanan termasuk jenis, kadar air, pH dan jumlah senyawa di dalamnya (Nuraini, 2007).

Menurut Jawetz *et al.*, (2007) metode yang paling digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah obat tertentu yang ditempatkan diatas medium padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah di inkubasi, diameter zona jernih inhibisi di sekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu.

Menurut Ratnasari (2009) metode difusi dibagi menjadi beberapa cara yaitu:

### **1. Metode Silinder Gelas**

Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi yang tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan pada bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder.

### **2. Metode Kertas Cakram (*Disk diffusion*)**

Metode cakram kertas adalah meletakkan cakram kertas yang telah direndam dengan larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah melakukan diinokulasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan di sekeliling cakram. Kelebihan dari metode difusi cakram ini adalah mudah untuk dilakukan, tidak perlu memerlukan peralatan khusus dan murah. Kekurangan yang terdapat pada metode difusi cakram ini adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inoculum, predifusi, dan preinkubasi serta ketebalan medium.

### 3. Metode Cetak Lubang (metode sumur)

Metode cetak lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian yang dilakukan, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan dari bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang.

#### 2.5. Bakteri Patogen

Bakteri merupakan uniseluler yang pada umumnya tidak berklorofil, ada beberapa yang fotosintetik dan produksi aseksualnya. Secara pembelahan bakteri memiliki ukuran sel yang kecil dimana pada setiap selnya hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Ukuran bakteri bervariasi baik penampang maupun panjang, tetapi pada umumnya penampang bakteri berkisaran 0,7 – 1,5, dengan panjang berkisaran 1,6  $\mu\text{m}$  (Anonim, 2003). Bakteri patogen merupakan bakteri yang dapat menyebabkan suatu penyakit. Bakteri patogen dapat menyebar luas melalui populasi manusia dalam berbagai cara. Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen melibatkan antibiotik, obat yang diformulasikan khusus untuk membunuh atau mematikan bakteri (Pelczar dan Chan, 1998).

##### 2.5.1. *Aeromonas salmonicida*

*A. salmonicida* pertama kali ditemukan pada ikan Trout di Jerman oleh Emmerich dan Weibel (1894). *A. salmonicida* terdiri dari 4 sub spesies, yaitu *A. salmonicida*, *A. achromogene*, *A. masoucida*, dan *A. smithia* (Cipriano dan Bullock, 2001).

Menurut Buchanan dan Gibbons (1974) dalam Departemen Kelautan dan Perikanan (2007) klasifikasi dari *A. salmonicida* adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria  
Kingdom : Proteobacteria  
Filum : Gammaproteobacteria  
Kelas : Aeromonadales  
Genus : *Aeromonas*  
Spesies : *Aeromonas salmonicida*



Gambar 2. *A. salmonicida* (Cipriano dan Bullock, 2001)

*A. salmonicida* merupakan bakteri Gram negatif (Austin dan Austin, 2007). Bakteri Gram negatif merupakan bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode perwarnaan Gram. *A. salmonicida* berbentuk batang pendek ( $1,3 - 2,0 \times 0,8 - 1,3 \mu\text{m}$ ), non motil atau tidak bergerak, tidak membentuk spora, fakultatif anaerob, pertumbuhan optimum pada suhu  $22^{\circ}\text{C}$ , memproduksi brown pigmen yang *diffusible* (untuk strain *typical*) (Pusat Karantina Ikan, 2007).

Secara taksonomi bakteri *A. salmonicida* dibagi 2 jenis yaitu *typical* dan *atypical*. Strain *typical* mempunyai inang dominan ikan-ikan salmonid dan menyebabkan penyakit furunculosis dengan gejala klinis yang khas sedangkan strain *atypical* mempunyai karakteristik yang memiliki banyak variasi dari sifat fisiologi, biokimia, dan serologi serta ketahanan terhadap antibiotik.

Menurut Departemen Kelautan dan Perikanan (2009) bakteri *A. salmonicida* memiliki warna putih, kecil, bulat, dan cembung. Strain *typical* dapat menghasilkan pigmen coklat yang akan akan lebih keliatan apabila medium ditambah dengan *tyrosine* atau *phenylalanine* (Robert, 1989). Pada media yang memiliki kandungan asam amino tinggi pigmen coklat akan terlihat jelas pada umur kultur 48 jam. Secara biokimia bakteri ini mempunyai sifat-sifat oksidase positif dan memfermentasi glukosa.

Ikan yang terserang bakteri *A. salmonicida* biasanya akan memperlihatkan tanda-tanda warna tubuhnya berubah menjadi agak gelap, kulit akan menjadi kasar dan timbul pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok (hemoragi), seluruh bagian sirip rusak dan insangnya menjadi berwarna keputih-putihan, organ mata rusak dan agak menonjol (*exophthalmia*) (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Menurut McCarthy dan Robert (1980) dalam Koski (2005) menyatakan bahwa gejala klinis dari serangan bakteri *A. salmonicida* pada ikan menyebabkan kemampuan renang menurun dan sering naik ke permukaan air dikarenakan insang yang rusak menyebabkan pendarahan pada insang sehingga ikan sulit untuk bernapas, sering terjadi pendarahan pada organ bagian tubuh ikan dan sering perut ikan menjadi kembung (dropsi), lender pada rectum berdarah, pembentukan cairan berdarah, pendarahan pada pangkal sirip, pendarahan didasar sirip dada, dan mortalitas yang tinggi.

### **2.5.2. *Pseudomonas aeruginosa***

Pemberian nama dari bakteri *P. aeruginosa* menggunakan sistem penamaan binomial. Klasifikasi dari *P. aeruginosa* menurut Siegrist (2010) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria  
Phylum : Proteobacteria  
Class : Gamma Proteobacteria  
Order : Pseudomonadales  
Family : Pseudomonadaceae  
Genus : Pseudomonas  
Species : *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 3. *P. aeruginosa* (Anonim, 2021)

Bakteri *P. aeruginosa* mempunyai ciri-ciri koloni berwarna kuning dengan diameter 2,42 mm, sel berbentuk batang, dan bersifat motil. Bakteri ini secara luas dapat ditemukan di alam, contohnya di tanah, air, tanaman, dan hewan. Bakteri *P. aeruginosa* adalah patogen oportunistik (Strohl, 2001).

Kemunculan penyakit yang disebabkan oleh *P. aeruginosa*, dimulai dengan gangguan atau kelainan dari sistem pertahanan tubuh yang normal (Todar, 2012). Bakteri ini menempel dan membentuk koloni pada membrane kulit atau mukosa menginvasi secara lokal dan menyebabkan penyakit sistemik (Brooks *et al.*, 2013). Todar (2012) juga menambahkan bahwa kebanyakan infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas* bersifat invasif dan toksinogenik. Infeksi *Pseudomonas* yang paling utama, terjadi dalam 3 fase berbeda, yaitu : perlekatan bakteri dan kolonisasi, invasi local serta penyebaran penyakit sistemik. Faktor

penentu patogenitas sangat berperan dalam fase-fase ini dan juga memberikan pengaruh utama pada sindrom asindroma khas yang muncul bersamaan dengan penyakit yang timbul.

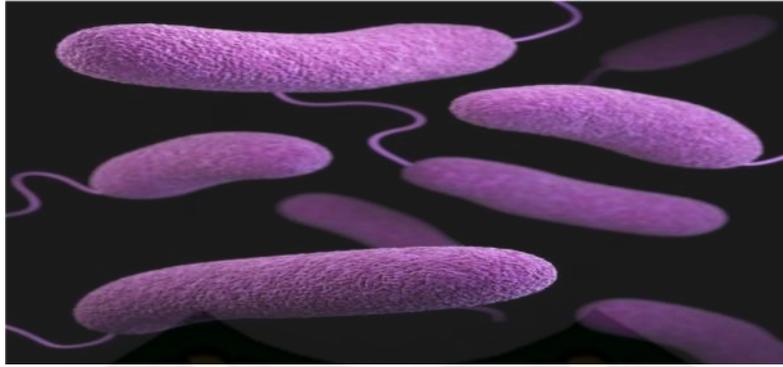
Dalam pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* tidak boleh dengan terapi obat tunggal karena tingkat keberhasilan yang rendah dan bakteri dengan cepat menjadi resisten. Pola kepekaan bakteri ini bervariasi secara geografik. Antibiotik yang aktif terhadap bakteri *P. aeruginosa* antara lain imipinem, aztreonam, kuinolon baru, termasuk ciprofloxacin (Jawetz *et al.*, 1986).

### 2.5.3. *Vibrio alginolyticus*

Bakteri *V. alginolyticus* merupakan gram negatif yang dapat menggunakan sejumlah komponen seperti satu-satunya sumber karbon dan energi tanpa membutuhkan vitamin atau *growth factor*. Banyak juga yang hidup pada kisaran suhu 4-42 °C dan dapat menetap selama berminggu-minggu di dalam lingkungan yang basah dengan sedikit makanan atau tanpa makanan. Karakteristik ini menjelaskan mengapa vibrio adalah sebuah patogen opportunistic yang efektif.

Klasifikasi dari bakteri *V. alginolyticus* menurut (Brogden *et al.*, 2000) adalah sebagai berikut :

Kigdom : Bakteria  
Filum : Proteobakteria  
Kelas : Gammaproteobakteria  
Order : Virbrionales  
Famili : Vibrionaceae  
Genus : Vibrio  
Spesies : *Vibrio alginolyticus*



Gambar 4. *V. alginolyticus* (Anonim, 2021)

Bakteri *V. alginolyticus* merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit vibriosis, dimana penyebaran penyakit ini dapat melalui udang, ikan dan kepiting (Wei dan Wendy, 2012). Menurut Austin (1987) bakteri *V. alginolyticus* memiliki ciri-ciri berwarna kuning dan berdiameter 3-5  $\mu$ m. Karakteristik biokimia adalah mempunyai sifat fermentatif, oksidase, katalase, methyl red, H<sub>2</sub>S, glukosa, laktosa, dan manitol positif. Sedangkan sellobiosa, fruktosa dan galaktosa negatif.

Menurut Murdjani (2002) ada beberapa jenis bakteri *Vibrio* yang hidupnya berasosiasi dengan ikan kerapu bebek yang antara lain *V. alginolyticus*, *V. fuscus* dan *V. anguillarum* yang mana keganasan *V. alginolyticus* dan *V. anguillarum* dapat menyebabkan kematian pada larva ikan kerapu bebek. Bahkan *V. alginolyticus* dapat menyebabkan tingkat mortalitas larva hingga 100 %.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Benih Ikan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau pada bulan Oktober 2021.

#### 3.2. Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Alat Penelitian

No	Alat	Jumlah	Fungsi
1.	Timbangan analitik	1 Unit	Menimbang bahan yang diperlukan
2.	<i>Autoclave</i>	1 Unit	Sterilisasi alat dan bahan yang akan diperlukan
3.	Sendok	1 Buah	Mengambil bahan yang diperlukan
4.	Kaca arloji	1 Buah	Wadah media saat penimbangan
5.	Erlenmeyer 50 ml	19 Buah	Wadah untuk memanaskan media dan kultur bakteri patogen
6.	Erlenmeyer 250 ml	1 Buah	Wadah untuk memanaskan media
7.	<i>Magnetic stirrer</i>	1 Buah	Mengaduk media saat pemanasan di <i>hot plate</i>
8.	<i>Hot plate</i>	1 Unit	Memanaskan media yang akan digunakan
9.	<i>Laminar air flow</i>	1 Unit	Tempat menanam dan infeksi bakteri patogen
10.	Cawan petri	15 Buah	Tempat media agar
11.	Tabung reaksi	6 Buah	Tempat media agar miring
12.	Gelas ukur 25 ml	1 Buah	Menakar agar yang akan dimasukan ke cawan petri
13.	Gelas ukur 250 ml	1 Buah	Menakar aquades
14.	Vortex	1 Unit	Menghomogenkan suspense ekstrak
15.	Aluminium foil	1 Roll	Menutup wadah media yang digunakan
16.	Rak tabung reaksi	2 Buah	Tempat meletakkan tabung reaksi

17.	Micro pipet 10-100 $\mu\text{m}$	1 Buah	Mengambil sampel bakteri ke media agar
18.	Micro pipet 100-1000 $\mu\text{m}$	1 Buah	Mengambil sampel ekstrak daun sirsak
19.	Jarum ose	2 Buah	Infeksi bakteri patogen ke media agar dan broth
20.	Bunsen	2 Buah	Sterilisasi jarum ose
21.	Beaker glass 20 ml	7 Buah	Wadah kertas cakram dan cakram antibiotik yang akan digunakan
22.	Pinset	1 Buah	Mengambil kertas cakram
23.	<i>Incubator</i>	1 Unit	Tempat inkubasi dan pembiakan bakteri
24.	Jangka sorong	1 Buah	Mengukur diameter daya hambat
25.	<i>Rotary evaporator</i>	1 Buah	Mengekstraksi daun sirsak
26.	Botol selai kaca	1 Buah	Wadah penyimpanan ekstrak
27.	Botol vial	5 Buah	Wadah stok konsentrasi ekstrak
28.	Plat tetes	1 Buah	Wadah kertas cakram yang akan ditetesi konsentrasi dari ekstrak

### 3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Bahan Penelitian

No.	Bahan	Fungsi
1.	Nutrien Agar (NA)	Media isolasi, kultur dan permurnian bakteri patogen
2.	Nutrien Borth	Media pemurnian bakteri
3.	Aquades	Pelarut media agar dan broth
4.	Ekstrak Daun Sirsak	Bahan sampel uji
5.	Alkohol 70%	Sterilisasi
6.	Spiritus	Bahan bakar Bunsen
7.	Bakteri <i>A. salmonicida</i>	Bakteri patogen uji antagonis
8.	Bakteri <i>E. tarda</i>	Bakteri patogen uji antagonis
9.	Bakteri <i>E. ictaluri</i>	Bakteri patogen uji antagonis
10.	Kertas Cakram	Uji antagonis
11.	Kertas Cakram Antibiotik Oksitetrasiklin	Control positif uji antagonis
12.	Etil Asetat	Fraksinasi ekstrak daun sirsak
13.	n-Heksana	Fraksinasi ekstrak daun sirsak
14.	Metanol	Melarutkan ekstrak
15.	Kloroform	Uji Alkoloid
16.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N	Uji Alkoloid dan Uji terpenoid/Steroid
17.	Mayer	Uji Alkoloid

18.	Dragendorff	Uji Alkaloid
19.	Serbuk Magnesium	Uji Flavonoid
20.	Acetic Acid	Uji Terpenoid/Steroid
21.	FeCl <sub>3</sub> 1%	Uji Fenolik
22.	HCl 37%	Uji Flavonoid

### 3.3. Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri

Uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Aeromonas salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*. Hasil uji pendahuluan, didapatkan bahwa ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi 50% memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat (zona bening). Zona hambat pada bakteri *A. salmonicida* sebesar 15 mm, *P. aeruginosa* sebesar 14 mm dan *V. alginolyticus* sebesar 15 mm pada area sekitar cakram, efektivitas daya hambat ini tergolong kuat. Hasil uji pendahuluan ini digunakan untuk menentukan konsentrasi perlakuan pada penelitian ini.

### 3.4. Rancangan Percobaan dan Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimental, dimana untuk mengetahui kemampuan daya antibakteri ekstrak daun sirsak terhadap bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus* yang dilakukan dengan lima perlakuan dan dua kali ulangan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perbedaan konsentrasi ekstrak daun sirsak, sebagai berikut :

- P1 = Ekstrak daun sirsak konsentrasi 10%
- P2 = Ekstrak daun sirsak konsentrasi 20%
- P3 = Ekstrak daun sirsak konsentrasi 30%
- P4 = Ekstrak daun sirsak konsentrasi 40%
- P5 = Ekstrak daun sirsak konsentrasi 50%

Metode perlakuan ini dilakukan dengan dua tahap yaitu pertama adalah eksperimental laboratorium. Daun sirsak (*Annona muricata* L) diekstraksi dengan metode maserasi yaitu dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) menentukan aktivitas sediaan ekstrak daun sirsak sebagai kandidat antibakteri. Kedua, metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu difusi cakram, dimana dalam teknik ini media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri patogen kemudian dimasukkan kertas cakram pada media yang telah diisi ekstrak uji.

### **3.5. Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1. Pengambilan Sampel Daun sirsak (*Annona muricata* L)**

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun sirsak yang diperoleh di sekitaran Jalan Desa Sanglar Kecamatan Reteh Kabupaten Indragiri Hilir Provinsi Riau.

#### **3.5.2. Ekstraksi dan Fraksinasi Daun sirsak (*Annona muricata* L)**

Dalam proses pembuatan ekstrak daun sirsak metode yang digunakan yaitu metode ekstraksi maserasi. Metode ini digunakan karena cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Proses pengerjaannya yaitu sampel dari daun sirsak yang telah kering kemudian dimasukan ke dalam bejana maserasi lalu diberi cairan pelarut metanol secukupnya.

Metanol digunakan karena termasuk pelarut polar sehingga pelarut diharapkan dapat menarik zat-zat aktif yang sifatnya polar (yang dibutuhkan), kemudian ditutup dan disimpan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 2 hari sampel tersebut disaring

untuk memisahkan larutan dengan ampasnya, ampas dari daun sirsak tersebut dimasukkan kembali ke dalam bejana maserasi dan dilakukan seperti semula. Hasil saringan diuapkan dalam *rotary evaporator* dengan suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak murni dari daun sirsak, setelah mendapatkan ekstrak murni daun dari proses evaporasi, ekstrak dimasukkan ke dalam botol selai kaca dan ditutup menggunakan tisu agar penguapannya maksimal.

Fraksinasi dilakukan secara bertingkat menggunakan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda dengan menggunakan corong pisah, sebelumnya ekstrak yang digunakan telah dilarutkan menggunakan pelarut metanol sebanyak 150 ml dan air sebanyak 150 ml. Kemudian fraksinasi diawali dengan pelarut non polar ( n-heksana ) tiap kalinya sebanyak 300 ml.

Proses fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan, sehingga diperoleh fraksi n-heksana dan fraksi air. Fraksi n-heksana digabung dan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi kental n-heksana. Fraksinasi dilanjutkan dengan pelarut semi polar ( etil asetat ). Proses yang sama diulangi seperti pada pengerjaan fraksi n-heksana, sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi etil asetat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi kental etil asetat.

### **3.5.3. Pembuatan Konsentrasi Suspensi Ekstraksi Daun sirsak (*Annona muricata* L)**

Konsentrasi suspensi ekstrak daun sirsak yang akan digunakan yaitu mulai dari 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% dengan cara:

1. Konsentrasi 10% (0,2 g ekstrak daun sirsak + 2 ml Etil)
2. Konsentrasi 20% (0,4 g ekstrak daun sirsak + 2 ml Etil)
3. Konsentrasi 30% (0,6 g ekstrak daun sirsak + 2 ml Etil)

4. Konsentrasi 40% (0,8 g ekstrak daun sirsak + 2 ml Etil)
5. Konsentrasi 50% (1 g ekstrak daun sirsak + 2 ml Etil)

#### **3.5.4. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sebelum melakukan kultur bakteri dan uji aktivitas antibakteri, peralatan yang terbuat dari kaca dibersihkan terlebih dahulu dengan mencucinya dengan sabun dan dibilas dengan air yang mengalir dan bersih, setelah dicuci alat tersebut dibungkus dengan menggunakan plastik bening kemudian dimasukkan ke dalam alat *autoclave* untuk disterilasi dan didiamkan selama 30 menit pada suhu 121°C.

Untuk sterilisasi aquades, hal yang pertama dilakukan yaitu aquades yang dibutuhkan dimasukkan ke dalam erlenmayer sebanyak 1000 ml atau sesuai yang dibutuhkan, setelah itu bagian atas dari erlenmayer tersebut ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk disterilasi selama 15 menit pada suhu 121°C.

Sterilisasi dilakukan untuk membunuh mikroba yang terdapat pada peralatan. Teknik sterilisasi yang paling sering digunakan adalah sterilisasi dengan menggunakan uap air panas bertekanan atau menggunakan *autoclave*. Suhu atau tekanan yang tinggi diberikan kepada alat dan bahan memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibanding dengan udara panas. Biasanya untuk mensterilkan media digunakan suhu 121°C selama 15 menit dan alat selama 30 menit (Fardiaz, 1992).

#### **3.5.5. Peremajaan Bakteri Patogen**

Peremajaan bakteri patogen merupakan proses penanaman ulang patogen yang sebelumnya sudah ada ke media yang baru untuk mempertahankan ketersediaan patogen atau bakteri tersebut, bakteri patogen yang digunakan dalam

penelitian ini yaitu *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*. Peremajaan bakteri patogen ini dilakukan pada media agar miring, untuk membuat media agar miring langkah pertama yang dilakukan yaitu mempersiapkan enam buah tabung reaksi yang sudah disterilisasi.

Langkah selanjutnya yaitu Nutrient Agar (NA) ditimbang sebanyak 1,08 gr dan ditambahkan aquades sebanyak 54 ml ke dalam erlenmayer 100 ml, setelah itu masukan magnetik stirrer dan ditutup menggunakan aluminium foil. Larutkan sampai homogen lalu dipanaskan menggunakan *hot plate* dengan suhu 200°C hingga mendidih. Setelah mendidih larutan diangkat dan dinginkan sebentar lalu disterilkan ke dalam autoclave selama 20 menit pada suhu 121°C. Setelah dipanaskan dan disterilkan media NA dituangkan kedalam tabung reaksi sebanyak 9 ml, miringkan tabung reaksi dan dinginkan sampai media NA mengeras. Setelah media mengeras, lalu tanam bakteri patogen masing-masing dilakukan dua kali ulangan dengan menggunakan metode jarum ose. Tandai setiap tabung reaksi sesuai dengan bakteri patogen yang terdapat di dalamnya, kemudian dilakukan inkubasi ke dalam inkubator selama 24 jam dalam suhu 30°C.

### **3.5.6. Kultur Bakteri Patogen pada Nutrient Broth (NB)**

Nutrient Broth (NB) merupakan media yang akan digunakan untuk mengkultur bakteri dan patogen yang berbentuk cair atau liquid. Pembuatan media NB menggunakan tiga erlenmeyer, langkah pertama yang dilakukan untuk pembuatan media NB yaitu, menimbang NB sebanyak 0,24 gr, kemudian tambahkan aquades sebanyak 30 ml kedalam erlenmeyer 50 ml, setelah itu masukan magnetik stirrer dan ditutup menggunakan aluminium foil. Kemudian panaskan media NB dengan menggunakan *hot plate* dengan suhu 200°C sambil

diaduk menggunakan magnetik stirrer hingga mendidih dan bening. Setelah mendidih media NB diangkat dan didinginkan sebentar, lalu masukan ke dalam erlenmeyer 30 ml sebanyak 3 buah. Masing-masing erlenmeyer tersebut di isi media NB sebanyak 10 ml, tutup bagian atasnya dengan menggunakan aluminium foil, lalu sterilkan pada autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit.

Media NB yang telah disterilkan kemudian didinginkan ke dalam *Laminar air flow*, setelah media tersebut dingin tanam tiga bakteri patogen yang sebelumnya sudah di remajakan, yaitu *Aeromonas salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*. pada masing-masing erlenmeyer dengan cara ambil bakteri pada tabung reaksi menggunakan jarum ose steril, kemudian masukan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi NB yang dingin, aduk sampai homogen lalu tutup bagian atas erlenmeyer menggunakan aluminium foil. Proses kultur bakteri dilakukan secara aseptis, setelah semua bakteri patogen di tanam ke dalam NB, lalu masukan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30°C.

### **3.5.7. Uji Aktivitas Antibakteri**

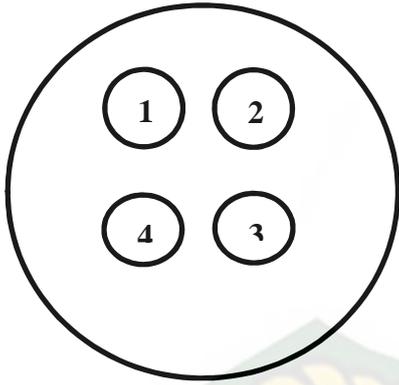
Dalam melakukan uji aktivitas antibakteri metode yang digunakan yaitu metode difusi cakram untuk mengetahui kekuatan daya hambat ekstrak terhadap bakteri patogen dengan menggunakan media Nutrient Agar (NA), dengan cara menanam sediaan ekstrak dalam media agar yang telah diberi bakteri *Aeromonas salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*., bakteri ini diperoleh dari Laboratorium Balai Benih Ikan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau.

Nutrient Agar (NA) merupakan media yang digunakan untuk kultur bakteri dan patogen yang berbentuk padat. Pembuatan media NA untuk 15 cawan petri, langkah pertama yang dilakukan yaitu timbang NA sebanyak 4,5 gr kemudian

tambahkan aquades sebanyak 225 ml ke dalam erlenmeyer 250 ml, homogenkan, lalu masukan *magnetik stirrer* dan tutup dengan aluminium foil. Panaskan menggunakan *hot plate* dengan suhu 200°C hingga mendidih. Setelah mendidih angkat dan dinginkan sebentar, lalu masukan ke dalam erlenmeyer 50 ml sebanyak 15 buah. Masing-masing erlenmeyer diisi sebanyak 15 ml, tutup bagian atasnya menggunakan aluminium foil, kemudian sterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit.

Media NA yang sudah disterilkan kemudian diletakan ke dalam *laminar air flow* tunggu suhu media 40°C atau hangat kuku. Setelah media hangat kuku tanam tiga bakteri patogen yang sebelumnya sudah dikultur pada media NB dengan cara ambil suspensi bakteri dengan mikro pipet dan diteteskan sebanyak 30 µL ke dalam erlenmeyer, homogenkan, setelah itu tuang ke dalam cawan petri diratakan pada media, lalu diamkan selama 30 menit.

Setelah itu teteskan kertas cakram dengan sediaan ekstrak daun sirsak sebanyak 100µL secara bertahap. Setelah itu kertas cakram yang telah ditetesi diletakan di atas media dan ditekan dengan pelan menggunakan pinset agar menempel sempurna. Setelah selesai diberi label, lalu diinkubasi secara terbalik selama 24 jam dengan suhu 30°C. Hasil dari inkubasi berupa daerah bening di sekitar cakram menunjukan bahwa tidak ada pertumbuhan bakteri diinterpretasikan sebagai zona hambat. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram atau tes Kirby Bauer, terdiri dari satu kertas cakram antibiotik (+), satu kertas cakram kontrol (-), dan dua kertas cakram yang sudah ditetesi suspense ekstrak daun sirsak. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Keterangan :

1. Kontrol positif, antibiotik oksitetrasikin
2. Kontrol negatif, methanol
3. Suspensi konsentrasi ekstrak daun sirsak
4. Suspensi konsentrasi ekstrak daun sirsak

Gambar 3.1. Metode Difusi Cakram

Zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam diukur menggunakan jangka sorong dan diinterpretasikan kekuatan zona hambatnya. Adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus* yang ditandai oleh terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang mengandung larutan uji dan kontrol positif.

Tabel 3.3. Kriteria Kekuatan Zona Hambat

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
< 5 mm	Lemah
5 - 10 mm	Sedang
10 - 20 mm	Kuat
20 - 30 mm	Sangat kuat

Sumber: Sartika *et al.*, (2013)

### 3.5.8. Uji Fitokimia

#### 3.5.8.1. Uji Flavonoid

Ektstrak diambil sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 0,1 gram dan amil alkohol 0,4 ml. Kemudian ditambahkan lagi alkohol sebanyak 4 ml dan dicampur hingga homogen, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Cowan, 1999).

### **3.5.8.2.Uji Alkaloid**

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram kemudian ditambahkan dengan kloroform sebanyak 5 ml dan amoniak sebanyak 3 tetes. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M. Fraksi asam dibagi menjadi tiga tabung yang mana masing-masing tabung ditambahkan pereaksi dragendorf, meyer dan wagner. Untuk alkaloid pada sampel ditandai dengan adanya endapan putih pada pereaksi meyer, pada endapan pereaksi dragendorf ditandai dengan timbulnya endapan merah dan pada pereaksi wagner ditandai dengan adanya endapan cokelat (Harbone, 1987).

### **3.5.8.3.Uji Tanin**

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan aquades sebanyak 10 ml lalu dikocok. Diamkan sampel selama 5 menit, setelah itu sampel dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung menggunakan tabung reaksi. Filtrat ditambah dengan FeCl<sub>3</sub> 1 sebanyak 5 tetes kemudian dikocok. Reaksi positif dari percobaan ini adalah terbentuknya warna hijau kehitaman (Harbone, 1987).

### **3.5.8.4.Uji Saponin**

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram kemudia dimasukan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan aquades sebanyak 10 ml lalu dikocok selama 30 detik. Hasil positif dari percobaan ini adalah terbentuknya busa tebal ± 1 cm yang konstan (Harbone, 1987).

### 3.6. Hipotesis dan Asumsi

Dalam penelitian ini hipotesa yang diajukan adalah:

H0 = Ekstrak daun sirsak tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*..

H1 = Ekstrak daun sirsak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*..

Hipotesis di atas diajukan dengan asumsi sebagai berikut:

1. Tingkat virulensi bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus* dianggap sama
2. Tingkat keterampilan dan ketelitian peneliti dianggap sama
3. Keadaan lingkungan dan kebersihan alat laboratorium dianggap sama.

### 3.7. Analisis Data

Data penelitian uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*A. muricata*. L) dan aktivitas daya hambat ekstrak daun sirsak (*A. muricata*. L) terhadap bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*, di analisis secara deskriptif kemudian didukung oleh literatur.

## IV. HASIL PENELITIAN

### 4.1. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L)

Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini adalah dugaan awal untuk mengetahui kandungan dari senyawa pada ekstrak daun sirsak (*A.muricata* L) yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang telah diuji. Metode yang dilakukan pada uji fitokimia ini dengan cara mereaksikan ekstrak daun sirsak dengan suatu senyawa tertentu dalam wadah.

Hasil dari uji fitokimia yang dilakukan dianggap positif, jika telah terjadi perubahan warna terhadap golongan senyawa yang sesuai dengan warna standar yang telah ditetapkan. Begitu juga dengan sebaliknya, jika hasil dari uji fitokimia yang dilakukan tidak terjadi perubahan, maka dianggap negatif atau tidak mengandung senyawa yang diuji. Berdasarkan dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*A.muricata* L) yang dapat dilihat pada tabel 4.1 :

Tabel 4.1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L)

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Ket
1	Alkaloid	Meyer Dragendorff	- Putih Keruh	(+)
			- Orange	
2	Fenolik	FeCl <sub>3</sub> 1%	Hijau Kehitaman	(+)
3	Saponin	-	Tidak Terbentuk Buih	(-)
4	Terpenoid/Steroid	Lieberman – Burchad	Merah Keunguan	(+)
		Asam Sulfat Pekat H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 95%	Biru Kehijauan	
5	Flavonoid	Serbuk Magnesium 0,05 gr	Merah Muda	(+)
		Asan Klorida Pekat (HCL) 37 %		

Keterangan : (+) = Teridentifikasi senyawa, (-) = Tidak teridentifikasi senyawa

Dapat dilihat pada tabel 4.1. hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*A. muricata* L) diketahui mengandung senyawa alkaloid, fenolik, terpenoid/steroid

dan flavonoid. Adanya senyawa alkaloid pada ekstrak dari daun Sirsak diketahui dengan adanya endapan berwarna oranye, saat ditambahkan pereaksi dragendorff dan timbulnya warna putih keruh saat ditambahkan pereaksi meyer.

Harbone (1987) menyatakan bahwa, hasil senyawa alkaloid yang ditemukan pada sampel ditandai dengan perubahan warna oranye kemerahan pada pereaksi dragendorff dan warna putih keruh pada pereaksi meyer. Aktivitas antibakteri pada senyawa alkaloid dengan mekanisme merusak komponen-komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri, sehingga menyebabkan lapisan pada sel tidak terbentuk sempurna dan kematian pada sel.

Hasil pada uji senyawa fenolik ekstrak daun sirsak yaitu terjadinya perubahan warna hijau kehitaman ketika ditambahkan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak positif mengandung senyawa fenolik. Mawaddah *et al.*, (2018) menyatakan, kandungan dari senyawa fenolik ditandai dengan adanya perubahan warna pereaksi menjadi hijau sampai hitam pekat pada sampel. Menurut (Pengelly, 2006), senyawa fenolik memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antiseptik, bakterisidal dan lainnya.

Selanjutnya ekstrak daun sirsak juga memiliki kandungan terpenoid/steroid, pada saat ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard mengalami perubahan warna menjadi merah keunguan, dan setelah ditambah dengan pereaksi asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  95%) menghasilkan warna hijau kehitaman.

Herbone (1987) menyatakan, hasil uji positif pada uji senyawa terpenoid/steroid yaitu terbentuknya warna merah pada senyawa triterpenoid sedangkan pada senyawa steroid menghasilkan warna hijau. Mekanisme kerja

senyawa steroid sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak membran sel bakteri.

Monalisa *et al.*, (2011) menyatakan bahwa, senyawa terpenoid bereaksi dengan pori membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak pori serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri. Akibatnya sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya akan terhambat atau mati.

Ekstrak daun Sirsak positif mengandung flavonoid, dengan ditandai adanya perubahan warna bening menjadi warna merah muda saat larutan ekstrak daun sirsak ditambahkan pereaksi 0,05 gram, serbuk magnesium dan asam klorida pekat (HCl 37%). Menurut Cowan (1999), reaksi positif pada uji flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga setelah ditetesi pereaksi. Sabir (2005) menyatakan bahwa, senyawa flavonoid juga dapat merusak permeabilitas dinding sel mikroba, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba karena berikatan dengan protein fungsional sel dan DNA.

Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak tidak mengandung saponin. Hal ini dapat dilihat pada saat larutan ekstrak daun sirsak dipanaskan hingga mendidih, setelah dingin dikocok selama beberapa menit. Amati busa atau buih yang dihasilkan, jika busa atau buih tersebut stabil lebih kurang selama 5 menit maka ekstrak tersebut positif mengandung saponin.

#### **4.2. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sirsak ( *Annona muricata* L )**

Penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak ini menggunakan metode difusi cakram. Metode ini dilakukan dengan cara, kertas cakram ditetesi ekstrak dari daun sirsak sesuai dengan konsentrasi masing – masing perlakuan,

kemudian diletakkan di atas media agar yang berisi kultur bakteri patogen dan sedikit ditekan dengan menggunakan pinset supaya menempel pada media. Hasil dari metode difusi cakram ini diketahui dengan terbentuknya zona hambat berupa zona bening yang terdapat disekeliling kertas cakram setelah diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator.

Zona bening ini merupakan petunjuk kepekaan bakteri patogen terhadap bahan antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun sirsak. Bakteri patogen yang diuji ialah bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*. Cappucino dan Sherman (2001) menyatakan bahwa, metode kertas cakram merupakan metode yang biasa digunakan, untuk menguji aktivitas antimikroba suatu antibiotik terhadap mikroorganisme patogen yang menyebabkan penyakit. Kepekaan mikroorganisme patogen terhadap antibiotik terlihat dari ukuran zona bening yang terbentuk.

#### **4.2.1. Bakteri *Aeromonas salmonicida***

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, dapat diketahui dengan terbentuknya zona hambat berupa zona bening yang ditemukan disekeliling kertas cakram. Untuk lebih jelasnya hasil uji zona hambat ekstrak daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada Gambar 6 :



Gambar 6. Rata-rata zona Hambat Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak terhadap Pertumbuhan Bakteri *A. salmonicida*

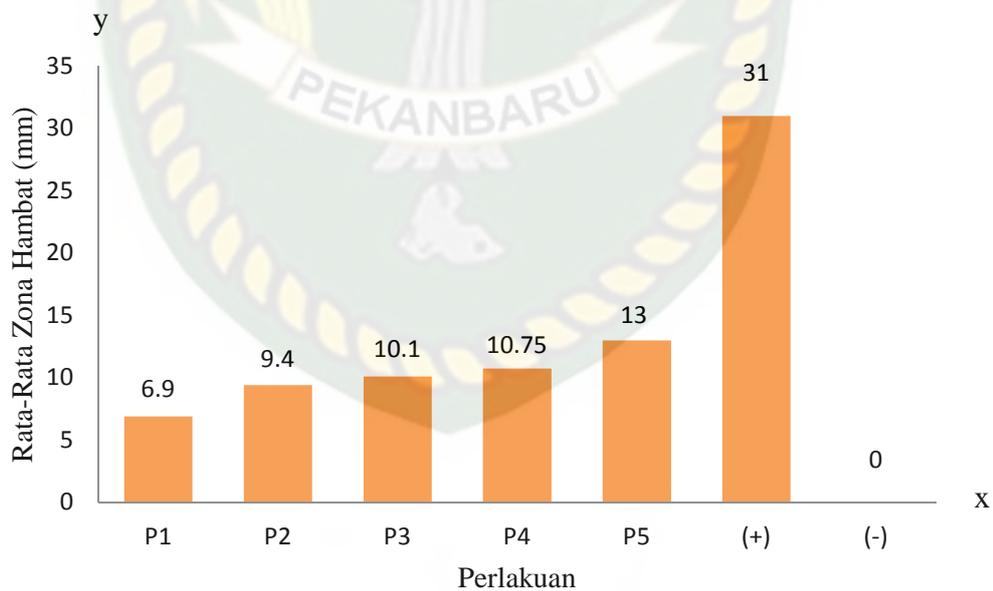
Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak pada bakteri *A. salmonicida* perlakuan P1 konsentrasi 10% sebesar 6,9 mm, P2 konsentrasi 20% sebesar 7,6 mm, P3 konsentrasi 30% sebesar 9,75 mm, P4 konsentrasi 40% sebesar 10,6 mm dan P5 konsentrasi 50% sebesar 12,6 mm. Rata-rata zona hambat pada kontrol positif sebesar 26 mm, sedangkan pada kontrol negatif tidak didapati zona hambat. Zona hambat yang tertinggi terdapat pada perlakuan P5 konsentrasi 50% sebesar 12,6 mm dan yang terendah pada perlakuan P1 konsentrasi 10% sebesar 6,9 mm.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak pada perlakuan P1, P2, dan P3 termasuk pada golongan sedang dengan rentang zona hambat 5-10 mm, kemudian perlakuan P4 dan P5 termasuk pada golongan kuat dengan rentang zona hambat 10-19 mm. Menurut Davis (1971), klasifikasi respon hambatan bakteri dengan diameter 5-10 tergolong sedang dan pada diameter 10-19 termasuk pada respon hambatan kuat.

Brooks *et.,al.* (2008) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh faktor-faktor yaitu konsentrasi dari ekstrak, kandungan pada senyawa antibakteri, daya difusi dari ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat. Meningkatnya diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan dapat dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang ada pada ekstrak daun sirsak, namun pada penelitian ini belum diketahui senyawa apa yang paling bertanggung jawab atau yang paling berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

#### 4.2.2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak yang digunakan pada penelitian ini, menghasilkan zona hambat yang berbeda-beda pada setiap perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 7 :



Gambar 7. Rata-rata Zona Hambat Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak terhadap Pertumbuhan Bakteri *P. aeruginosa*

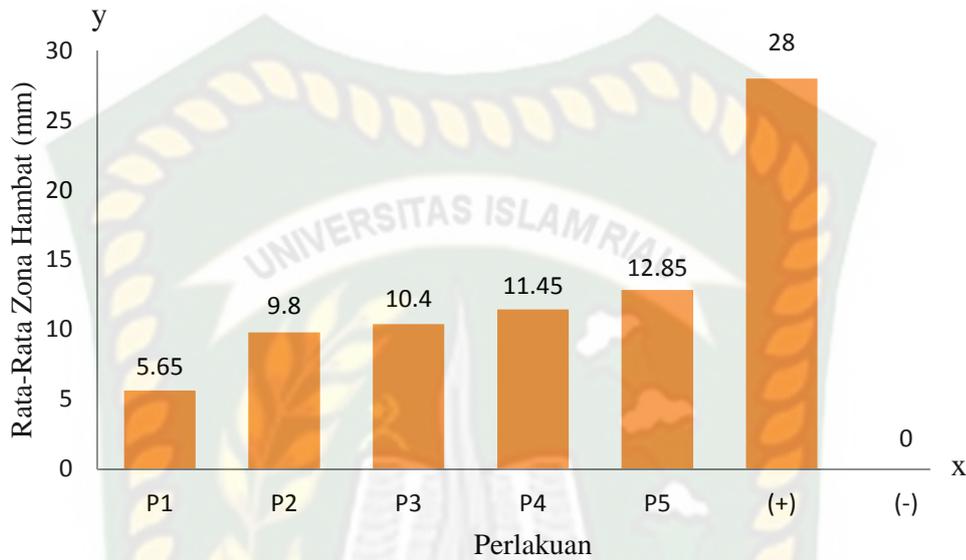
Berdasarkan pada gambar diatas, uji aktivitas antibakteri pada perlakuan P1 konsentrasi 10% sebesar 6,9 mm, P2 konsentrasi 20% sebesar 9,4 mm, P3

konsentrasi 30% sebesar 10,1 mm, P4 konsentrasi 40% sebesar 10,75 mm dan P5 konsentrasi 50% sebesar 13 mm. Rata-rata zona hambat pada kontrol positif sebesar 31 mm, sedangkan pada kontrol negatif tidak didapati zona hambat. Pemberian ekstrak daun sirsak pada bakteri *P.aeruginosa* mengalami peningkatan dari P1 konsentrasi 10% sampai P5 konsentrasi 50%. Zona hambat yang tertinggi terdapat pada perlakuan P5 konsentrasi 50% sebesar 13 mm dan yang terendah pada perlakuan P1 konsentrasi 10% sebesar 6,9 mm. Davis dan Stout (menunjukkan bahwa efek antibakteri dari ekstrak daun sirsak memiliki daya hambat yang kuat karena memiliki diameter zona hambat dengan rerata 12,3 mm. selain itu jumlah konsentrat ekstrak yang diberikan pada bakteri juga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri sehingga zona hambat yang terbentuk semakin besar, Poeloengan *et al.*, (2006) menyatakan bahwa, penambahan konsentrasi ekstrak yang diberikan akan meningkatkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.

Hasil zona hambat pada perlakuan P1 konsentrasi 10% dan perlakuan P2 konsentrasi 20% termasuk kategori sedang dengan rentang 6-9 mm. Pada perlakuan P3 konsentrasi 30% sampai perlakuan P5 konsentrasi 50% digolongkan pada kategori kuat, karena rentang zona hambat yang dihasilkan yaitu 10-20 mm. Mardiana dan Ratnasari, (2007) menjelaskan bahwa, terbentuknya zona hambat pada tubuh bakteri patogen disebabkan oleh zat-zat aktif yang terdapat dalam ekstrak daun sirsak.

#### 4.2.3. Bakteri *Vibrio alginolyticus*

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, hasil uji daya hambat ekstrak daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*, dari perlakuan P1 konsentrasi 10% sampai P5 konsentrasi 50% dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Rata-rata Zona Hambat Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak terhadap Pertumbuhan Bakteri *V. alginolyticus*

Berdasarkan pada gambar diatas, perlakuan konsentrasi ekstrak daun sirsak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Zona hambat yang terendah pada perlakuan P1 konsentrasi 10% sebesar 5,65 mm dan yang tertinggi pada P5 konsentrasi 50% sebesar 12,85 mm. Selanjutnya rata-rata diameter zona hambat pada kontrol positif sebesar 28 mm, dan pada kontrol negatif tidak ditemukan zona hambat disekitar kertas cakram. Menurut Andrieas *et al* (2014), besarnya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti lama inkubasi, jenis ekstrak yang digunakan, dan inokulum.

Adanya zona hambat disekitar kertas cakram yang ditanam pada media kultur, pada uji daya hambat antibakteri membuktikan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki senyawa antibakteri terhadap bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*. Sesuai dengan pernyataan Nisaa' dan Darjono (2011), bahwa zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menunjukkan terdapat aktivitas senyawa antibakteri.

Hasil uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini yaitu pada perlakuan P1 konsentrasi 10% dan perlakuan P2 konsentrasi 20% termasuk kategori sedang dengan rentang zona hambat 5 - 10 mm. Perlakuan P3 konsentrasi 30% sampai perlakuan P5 konsentrasi 50%, digolongkan pada kategori kuat, rentang zona hambat 10 – 20 mm. Sartika *et al.*, (2013) menyatakan bahwa, kategori daya hambat antimikroba dibagi menjadi 4 berdasarkan diameter, yaitu : Diameter <5 mm tergolong lemah, Diameter 5-10 mm tergolong sedang, Diameter 10-20 mm tergolong kuat, Diameter 20-30 mm tergolong sangat kuat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak daun sirsak dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*. ekstrak daun sirsak mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan, adanya kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun sirsak. Senyawa aktif yang ada dalam ekstrak daun sirsak mengakibatkan dinding sel, membrane sel dan komponen penting yang terdapat didalam sel rusak sehingga mengalami kematian sel. Nurhalimah dkk. (2014) menyatakan bahwa senyawa aktif yang ada pada kandungan ekstrak daun sirsak ini mampu merusak dinding sel, menonaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga mengalami

kerusakan bahkan kematian pada dinding sel yang diakibatkan karena penurunan permeabilitas.

#### **4.3. Mekanisme Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L )**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak daun sirsak dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa alkaloid, fenolik, terpenoid/steroid, dan flavonoid yang terdapat pada ekstrak daun sirsak.

Senyawa alkaloid berperan sebagai antibakteri dengan cara merusak komponen-komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri, yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna serta dapat menyebabkan kematian pada sel (Ningsih *et al.*, 2016).

Mekanisme penghambat terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri berupa merusak dinding sel dengan cara menghambat pembentukan sel, berubahnya membran sitoplasma yang menyebabkan keluarnya bahan-bahan makanan dari dalam sel, terhambatnya sistem kerja enzim, terhambatnya sintesis asam nukleat dan protein serta molekul protein dan asam nukleat mengalami perubahan. (Sulistyo, 1971) menyatakan bahwa mekanisme pada penghambatan antibakteri dikelompokkan menjadi lima, yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat sintesis protein sel, merusak keutuhan dinding sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel mikroba.

Senyawa fenolik dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel serta merusak enzim-enzim bakteri. Denaturasi protein merupakan kerusakan struktur tersier dari protein yang menyebabkan

terjadinya kerusakan pada protein dan menyebabkan protein tidak dapat berfungsi. Senyawa fenolik ini merupakan kelompok senyawa terbesar yang berfungsi sebagai antioksidan alami pada tumbuhan. Mhaske *et.,al* (2012) menyatakan bahwa, mekanisme kerja senyawa fenolik sebagai antibakteri dengan cara merusak dinding sel serta enzim-enzim bakteri.

Mekanisme antibakteri yang terdapat pada senyawa terpenoid bekerja membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin, akibatnya sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri tersebut terhambat. Dinding sel yang rusak menyebabkan senyawa metabolit sekunder dapat masuk ke dalam membran sel dan mengakibatkan kerusakan sel (Cowan, 1999).

Senyawa flavonoid dapat menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom, sebagai hasil interaksi dari senyawa flavonoid dengan DNA bakteri (Wulandari, 2016).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak mengandung senyawa fenolik, flavonoid, terpenoid/steroid dan alkaloid.
2. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak konsentrasi 10%, sampai 30% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida* dengan kategori sedang, konsentrasi 40% dan 50% dengan kategori kuat. Daya hambat ekstrak daun sirsak konsentrasi 10% dan 20% pada bakteri *P. aeruginosa* termasuk kategori sedang, konsentrasi 30%, sampai 50% termasuk kategori kuat. Daya hambat ekstrak daun sirsak konsentrasi 10% dan 20% pada bakteri *V. alginolyticus* termasuk kategori sedang, konsentrasi 30% sampai 50% termasuk kategori kuat.

### 5.2. Saran

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirsak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *P. aeruginosa*, *V. alginolyticus*. Disarankan untuk melakukan penelitian penggunaan ekstrak daun sirsak pada jamur yang menyerang ikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E dan Liviawaty. 1992. *Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Aisyah. 2015. Daya Hambat Ekstrak Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin.
- Anditasari, D.A., S. Kumalaningsih, and A.F. Mulyadi. 2014. Potensi Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) Sebagai Serbuk Pewarna Alami (Kajian Konsentrasi Dekstrin Dan Putih Telur Terhadap Karakteristik Serbuk). Seminar Nasional BKS PTN Barat. Lampung.
- Andries, J.R., P.N. Gunawan dan A. Supit. 2014. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Jurnal e-GIGI (eG). 2(2): 1-5.
- Anonim Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya. 2003. *Bakteriologi Medik*. Bayu Media. Malang.
- Anonim. 2021. American Society For Microbiology. <https://aem.asm.org/content/73/4/1349/figures-only>. Diakses pada tanggal 8 Oktober 2021.
- Ardydi. 2013. Pelarut. <https://ardydii.wordpress.com.2013/03/13/pelarut>. Diakses pada tanggal 10 Oktober 2021.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. *Bacterial fish Pathogens; Diseases in Farmed and Wild Fish*. Ellis Horwood Limited. Chichester West Sussex, England.
- Austin, B. and D.A. Austin. 2007. *Bacterial fish pathogens Disease of Farmed and Wild Fish*, 4<sup>th</sup> Edition. Springer Praxis. Godalming. UK.
- Berk, Z. 2009. *Food Process Engineering and Technology*. ElsevierInc. New York. Daryono, E. D. 2009.
- Buchanan, R.E. and N.E. Gibbon. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eight edition. The William and Wilkins Company. Hal. 201 – 202.
- Brooks *et al.* (2008). *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed.23. Jakarta: EGC.

- Brooks, G.F., K.C. Carroll., J.S. Butel dan Morse. 2013. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg. Ed. 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Brogden, K.A., J.A. Roth., T.B. Stanton., C.A. Bolin., F.C. Minion and M.J. Wannemuehler. 2000. Virulence mechanisms of bacterial pathogens. American Society for Microbiology. ASM Press. Washington, DC.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. 2001. Microbiology: A Laboratory Manual. 2nd Edition. The Benjamin Cummings Publishing Company. Rockland Community College. State University of New York.
- Carter, G.R. and D.J. Wise. 2004. Veterinary Bacteriology and Micrology. USA: Iowa State Press. Iowa.
- Cipriano, R.C. and G.L. Bullock. 2001. *Furunculosis and Other Diseases caused by Aeromonas salmonicida*. Fish Disease Leaflet 66. The Freshwater Institute. West Virginia.
- Cowan. 1999. Plant products as antimicrobial agents. American Society for Microbiology 12(4): 564 – 582.
- Davis, S. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. Journal of Microbiology. 22(4)
- Departemen Kelautan dan Perikanan, *Outlook 2009 dan Refleksi 2008*(Jakarta: DKP. 2008)
- Departemen Kesehatan RI. 1979. Farmakope Indonesia Edisi III. Jakarta, hal 28 – 29.
- Emmerich, R. and Weibel, E. 1894. *Über eine durch Bakterien erzeugte Seuche unter den Forellen*. Archiv für Hygiene und Bakteriologie.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 62 hal.
- Hidayat dan Silvya. 2011, *Dasyatnya Khasiat Sirsak*, Chivita books, Yogyakarta.
- Irianty, R.S. dan R. Verawati. 2012. Variasi Komposisi Pelarut Metil Air pada Ekstraksi Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Prosiding SNTK. ISSN. 1907 – 0500.
- Istiqomah. 2014. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*).

- Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Jawetz, E. Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 1986. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Edisi 16. Diterjemahkan oleh Bonang Gerard. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 2007. Mikrobiologi Kedokteran. 23th ed. Jakarta.
- Koski, V.H. 2005. Ikan Patogen *Aeromonas salmonicida* dan *Renibacterium Salmoninarum*: Aspek Diagnostik dan Epidemiologi (skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Helsinki. Finlandia.
- Kamaludin I. 2011. Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya Aloe vera untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. melalui Pakan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Komansilan, Alfarits. (2012). Isolation and identification of Biolarvacide From Soursop (*Annona muricata* Linn) Seed to Mosquito *Aedes aegypti* Larvae. International Journal of Engineering and Technology IJET-IJENS. Vol 12:1
- Mardiana L dan J. Ratnasari. 2007. Ramuan dan khasiat sirsak. Penebar swadaya. hal 21-33.
- Mawaddah, N., Fakhurrrazi, dan Rosmaidar. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner. 2 (3), 230-241.
- McCarthy, D. H., and Robert, R. J. 1980. Furunculosis of Fish: The Present State of Our Knowledge . London: Academic Press.
- Mhaske, M., B. N. Samad, R. Jawade dan A. Bhansali. 2012, Chemical Agents in Control of Dental Plaque in Dentistry: An Overview of Current Knowledge and Future Challenges, Pelagia Research Library, 3 (1): 268-272.
- Monalisa, D. T., Handayani, D. Sukmawati. 2011. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Jurnal BIOMIA. 9 (2): 13-20.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Fakultas Ilmu Kesehatan. UIN Alaudin Makassar. Jurnal Kesehatan. Hal 1-7

- Murdjani, M. 2002. Identifikasi dan Patologi Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). Ringkasan Disertasi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Ningsih, D.R., Zusfahir, K. Dwi. (2016), Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri, *Molekul*, 11(1): 101-111
- Nisaa', U dan A. Darjono. 2011. Analisis minyak atsiri serai (*Cymbopogon citratus*) sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar gigi dengan menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Fakultas Kedokteran Gigi UNISSULA. Semarang. <http://www.unissula.ac.id>.
- Novriadi, R. S. Agustatik, Hendrianto, Pramuanggit dan A. Hariwibowo. 2014. Penyakit Infeksi Pada Budidaya Ikan Laut di Indonesia. *Research Gate*. 1-10.
- Nuraini, A.D. 2007. Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. ITB. Bogor. Hal 1-94.
- Nurhalimah Hanny, Novita Wijayanti, Tri Dewanti Widyaningsih. 2014. Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Bakteri *Salmonella thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 3, No.3, Hal 1083-1094.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S., 1988, Dasar-Dasar Mikrobiologi, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pengelly, A. 2006. *The Constituents Of Medical Plants : An Introduction To The Chemistry and Therapeutics of Herbal Medicines*, 2<sup>nd</sup> edition, Allen & Unwin, Australia, pp.15-25.
- Permatasari, G.A.A.A, I.N.K. Besung, H. Mahatmi. 2013. Daya Hambat Perasan Daun Sirsak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2 (2) : 162 – 169.
- Poeloengan, M., Chairul, I. Komala, S. Salmah dan M. N. Susan. 2006. Aktivitas antibakteri dan fitokimia dari beberapa jenis tanaman obat. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor. Hal. 300-305
- Pusat Karantina Ikan, DKP. 2007. *Metode Standar Pemeriksaan HPIK Golongan Bakteri*. Pusat Karantina Ikan. Hal 1 – 4.

- Rahayu, T. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffe terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 10(1) : 10 – 17.
- Rantam, F.A. 2003. *Methods Immunology*, Airlangga University Press. Surabaya, hlm 155-163.
- Ratnasari. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dikolometan dan Etil Aetat Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Universitas Islam Negeri Syarifihyatullah. Jakarta.
- Reed, A.P. and R.F. Floyd. 2002. *Vibrio Infection of Fish*. University of <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/51es/FA/FAO3600.pdf>.
- Roberts, R.J. 1989. *Fish Pathology*. Second Edition. Baillere Tindal. England. United Kingdom, pp 190 – 195.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: K. Padmawinata. Edisi IV. Bandung: ITB Press. Ed. 6. 367 hal.
- Sabir, A. (2005). Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona* sp. terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Jurnal Kedokteran Gigi*. 38 (3), Hal. 135-141.
- Sartika, R., Melki dan A.I.S. Purwiyanto. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut (*Euclima cottonii*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* Dan *Salmonella typhosa*. *Maspari Journal*. 5 (2), 98 – 103.
- Siegrist, J. (2010). *Pseudomonas a communicative bacteria*. [https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Fluka/Brochure/1/mibi\\_focus\\_2\\_4.pdf](https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Fluka/Brochure/1/mibi_focus_2_4.pdf) diakses januari 2022.
- Simanjuntak, M. 2008. Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Ekstrak Daun Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum*. L) Serta Pengujian Efek Sediaan Krim Terhadap Penyembuhan Luka Bakar.
- Sudarno, S.L. Rosanti, S. Subekti. 2012. Uji Sensitifitas Sari Buah Pare (*Momordica charantia* L) Pada Bakteri *Edwardsiella tarda* Dengan Metode Difusi Kertas Cakram Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4 (1): 109- 111.
- Sulistyo.1971.*Farmakologi dan Terapi*.Yogyakarta:Liberty

Strohl W.A., H. Rouse and B.D. Fisher. 2001. Microbiology. Lippincott Williams & Wilikns. USA. Hal 4.

Sunarjono, H. 2005. Sirsak dan Srikaya: Budi Daya Untuk Menghasilkan Buah Prima. Penebar Swadaya : Jakarta. Hal 75.

Taylor, L. 2002. Technical Data Report for Garviola Annona Muricata. Herbal secret of the Rainforest. Edition 2. Sage Press.

Todar, K. 2012. Pathogenic E. Coli. <http://textbookofbacteriology.net/e.coli.html>, diakses pada 10 Januari 2021.

Wei, L. S and W. Wendi. 2012. *Characterization of Vibrio alginolyticus* Isolated from White Leg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) with Emphasis on its Antibiogram and Heavy Metal Resistance Pattern. Veterinarski Arhiv. 82 (2) : 221-227

Wulandari, Fitria. 2016. Pemanfaatan Daun Sirsak Sebagai Obat Anti Kanker. Jurnal Nasional Ecopedon. 3 (1). hal 1-4.