

Penghambatan *Escherichia coli* ATCC 25922 oleh Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Inhibition of *Escherichia coli* ATCC 25922 by Ethyl Acetate Fraction of Soursop Leave

¹Rizal Rivaldi, ²Husin UA, ³Yuniarti L

^{1,2,3}Prodi Pendidikan dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

Jl. Tamansari No.20 Bandung 40116

email: ¹Rivaldi.rizal26@gmail.com, ²Usep.abdullah@gmail.com, ³lelly.yuniarti@gmail.com

Abstract. *Escherichia coli* is a normal flora in the digestive tract of humans and animals, and aerobic organisms residing in the gut main. Some strains of *Escherichia coli* develop resistance to several classes of antibiotics such as beta-lactam, quinolones, and aminoglycosides. Empirically, leaves of soursop (*Annona muricata* Linn) used for herbal medicine to treat various diseases. Compounds tannins, alkaloids, steroids, and flavonoids that contained in ethyl acetate fraction of soursop leaves an active substance that has antibacterial effect. This study aims to assess content of active substance in ethyl acetate fraction of soursop leaf and assess inhibition effect against *Escherichia coli* ATCC 25922. The study was conducted with pure experimental methods such as *in vitro*. The samples are pure cultures *Escherichia coli* ATCC 25922 were obtained from laboratory of STIKES. The material test of ethyl acetate fraction of leaves of soursop (*Annona muricata* Linn) with a concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, tween 80 as negative control, and chloramphenicol as positive control. Antibacterial effect against *Escherichia coli* ATCC 25922 tested using Kirby-bauer method on eosin methylen blue agar media by measuring inhibition zone, performed four times. The data in test for normality using Shapiro-wilk test and then continued by one way anova. Antibacterial test results showed inhibition zone formation at a concentration of 80% with an average diameter of 7 mm. Intergroup comparison with negative control and concentration of 80% showed a significant difference with p value is 0.000 (p value<0.05). The conclusion of this study is ethyl acetate fraction has an inhibition effect, but with a very minimal level.

Keywords: *Escherichia Coli* ATCC 25922, *Annona Muricata* Linn, Antibacterial, Ethyl Acetate Fraction

Abstrak. *Escherichia coli* merupakan flora normal di dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, dan organisme aerobik utama yang berada di usus. Beberapa strain *Escherichia coli* mengalami resistensi terhadap beberapa golongan antibiotik seperti golongan beta laktam, kuinolon, dan aminoglikosid. Secara empiris, daun sirsak (*Annona muricata* Linn) digunakan sebagai obat herbal untuk mengatasi berbagai penyakit. Senyawa tannin, alkaloid, steroid, dan flavonoid yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun sirsak merupakan zat aktif yang memiliki efek antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menilai zona hambat fraksi etil asetat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental murni *in vitro*, sampel berasal dari biakan murni *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diperoleh dari laboratorium STIKES jendral ahmad yani. Bahan uji berupa fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, kontrol negatif berupa tween 80, dan klorampenikol sebagai kontrol positif. Efek fraksi etil asetat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 diuji dengan menggunakan metode Kirby-Bauer pada media eosin methylen blue agar dengan mengukur diameter zona hambat dan dilakukan sebanyak empat kali. Data di uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk lalu dilanjutkan dengan uji One Way Anova. Hasil uji antibakteri menunjukkan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 80% dengan diameter rata-rata 7 mm. Perbandingan antarkelompok kontrol negatif dengan konsentrasi 80% menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan nilai p 0,000 (nilai p < 0,05). Kesimpulan dari penelitian ini adalah fraksi etil asetat memiliki efek zona hambat namun dengan kadar yang sangat minimal.

Kata Kunci: *Escherichia Coli* ATCC 25922, *Annona Muricata* Linn, Antibakteri, Fraksi Etil Asetat

A. Pendahuluan

Escherichia coli merupakan flora normal di dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, dan organisme aerobik utama yang berada di usus dengan memiliki 10⁶–10⁹ koloni per gram tinja, fungsinya sebagai salah satu indikator pencemaran tinja pada air (Pitout, 2014).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2–4 µm, lebar 0,4–0,6 µm, dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Brooks dkk, 2010; Ryan, 2004).

Terdapat 6 varian *Escherichia coli* seperti *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC), *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC), *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC), *Enteroadgregative Escherichia coli* (EAEC), dan *Diffusely adherent Escherichia coli* (DAEC). *Escherichia coli* ATCC 25922 Termasuk *E. coli* varian ETEC (Sreedharan & Liacouras, 2016).

World Health Organization (WHO) memperkirakan kematian akibat infeksi *E. coli* dengan varian ETEC di seluruh dunia mencapai 380.000 kematian per tahunnya pada anak di bawah usia 5 tahun. Kebanyakan penderita diare meninggal karena dehidrasi berat atau kehilangan cairan dalam tubuh (Qadri dkk, 2005).

Pada tahun 2013 di India menunjukkan bahwa dari 452 pasien diare, penyebab infeksi karena ETEC sebesar 164 pasien dengan prevalensi 36,3% (Dutta dkk, 2013).

Pada tahun 2000-2001 di Indonesia menunjukkan bahwa dari 489 pasien diare, penyebab infeksi karena ETEC sebesar 73 pasien dengan prevalensi 14,9% (Subekti dkk, 2003).

Terdapat beberapa varian dari *E. coli* yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan, seperti EPEC, ETEC, dan EAEC yang sering menyebabkan diare pada anak usia kurang dari 5 tahun. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) dan *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) menyebabkan infeksi di usus besar sehingga konsistensi feses dapat disertai dengan darah atau varian *E. coli* penyebab disentri (Brooks dkk, 2010; Sreedharan & Liacouras, 2016).

Infeksi *E. coli* dapat menyebabkan diare dengan gejala klinis berupa buang air besar lebih dari 3 kali sehari dari biasanya dengan atau tanpa lendir dan darah, demam, mual, muntah, nyeri pada perut, dan dapat disertai dengan dehidrasi atau kehilangan cairan tubuh, infeksi saluran kemih (ISK), dan sepsis/meningitis (Brooks dkk, 2010; Ryan, 2004).

Pengobatan yang digunakan untuk terapi infeksi *E. coli* biasanya berupa antibiotik seperti trimethoprim-sulfametosazol, sulfonamid, ampisilin, sefalosporin, fluorokuinolon, kloramfenikol, dan aminoglikosid dengan tingkat keberhasilan tertinggi adalah kloramfenikol 100% dan ampisilin 78% (Fazlani dkk, 2011; Zahera dkk, 2011).

Antibiotik berisiko dengan timbulnya efek samping yang tidak diinginkan seperti *dermonecrotic Stevens-Johnson Syndrom*, *retinopathies*, *aplastic anemia*, dan *nephrotoxicity*, bahkan tidak jarang menimbulkan resistensi bakteri seperti ampisilin sebesar 78% dan penisilin sebesar 72% (Fazlani dkk, 2011; Zahera dkk, 2011).

Salah satu tanaman yang telah dikembangkan pada berbagai penelitian di beberapa negara seperti di Amerika dan Indonesia, yaitu tanaman sirsak. *Annona muricata L* atau yang lebih dikenal dengan nama sirsak merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki banyak manfaat, mulai dari buahnya, daunnya, maupun akarnya. Sirsak dapat tumbuh pada kisaran iklim yang cukup luas, pada dataran rendah (0 m

dari permukaan laut/dpl) hingga 1.200 m dpl. Sirsak mengandung banyak kegunaan di bidang medis, antara lain sebagai antibakteri, antivirus, antiparasit, dekongestan, antipiretik, penenang, dan sebagai obat cacing. Bagian dari sirsak yang mempunyai manfaat sebagai antibakteri adalah daunnya. Daun sirsak mengandung sejumlah senyawa, antara lain *annoneceus acetogenin*, saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid. Senyawa ini berfungsi sebagai desinfektan-antiseptik sehingga dimungkinkan bahwa daun sirsak dapat digunakan sebagai antibakteri, khususnya untuk mengobati penyakit diare (Sari dkk, 2010; Mardiana & Ratnasari, 2010).

Di Indonesia menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun sirsak memiliki sejumlah senyawa, antara lain alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin, dan steroid (Yuniarti dkk, 2016).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* penyebab diare serta untuk mengetahui daya hambat pada setiap konsentrasi fraksi etil asetat daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* penyebab diare.

B. Landasan Teori

Diare merupakan kondisi peningkatan frekuensi buang air besar lebih dari 3 kali dalam 24 jam, atau buang air besar lebih sering daripada biasanya. Angka kejadian diare di Indonesia cenderung meningkat setiap tahun. Gejala yang ditimbulkan diare yang disebabkan oleh *E. coli* di antaranya buang air besar lebih daripada 3 kali sehari dari biasanya dengan atau tanpa lendir dan darah (Kemenkes, 2011).

Salah satu pengobatan yang digunakan untuk *E. coli* adalah menggunakan antibiotik seperti trimetoprim-sulfametoksazole, sulfonamid, ampicilin, sefalosporin, fluorokuinolon, kloramfenikol, dan aminoglikosid. (Sreedharan & Liacouras, 2016; Fazlani dkk, 2011). Mekanisme kerja dari obat-obat tersebut adalah menghambat pembentukan dinding bakteri dan menghambat sintesis protein pada saat replikasi DNA. Resistensi terjadi karena masih tingginya kejadian infeksi *E. coli* dan penggunaan antibiotik di beberapa negara (Zahera dkk, 2011).

Pengobatan herbal sudah sejak lama digunakan oleh masyarakat dunia termasuk termasuk di Indonesia berbagai macam tanaman obat sering digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi masalah kesehatannya. Salah satu tanaman obat yang mempunyai banyak khasiat adalah tanaman sirsak. Hampir semua bagian tanaman sirsak dapat digunakan sebagai obat mulai dari daun, akar, dan buah. Dalam daun sirsak terdapat senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri di antaranya *Annoneceus acetogenin*, flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin. (Sari dkk, 2010)

Annonaceous acetogenic dapat merusak fungsi mitokondria bakteri melalui penghambatan kompleks I mitokondria dan *ubiquinone-link* NADH oksidase dan mengikat matriks bagian *loop* ketiga pada sub-unit NDI dalam *NADH-ubiquinone oxidoreductase mitochondrial* (Kojima & Tanaka, 2009; Alali dkk, 1999).

Tanin mampu menghambat pertumbuhan bakteri melalui proses penghambatan ekspresi gen, inaktivasi enzim, reaksi dengan membran sel, dan destruksi. Efek spasmolitik tanin juga dapat mengkerutkan membran atau dinding sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas sel tersebut yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan atau kematian bakteri (Lim dkk, 2013; Zoetendal, 2008).

Saponin yang diisolasi dari beberapa tanaman memiliki daya antibakteri dengan mekanisme pelepasan enzim laktat dehidrogenase (LDH). Laktat dehidrogenase merupakan enzim sitosolik yang dapat merusak membran. Mekanisme

lain saponin adalah menghambat sitoaderen melalui aktivasi pada membran sel dan sitoskeleton bakteri. Hal ini terjadi karena sifat saponin menyerupai detergen yang dapat merusak *lipid bilayer* membran sel bakteri (Arabski dkk, 2012).

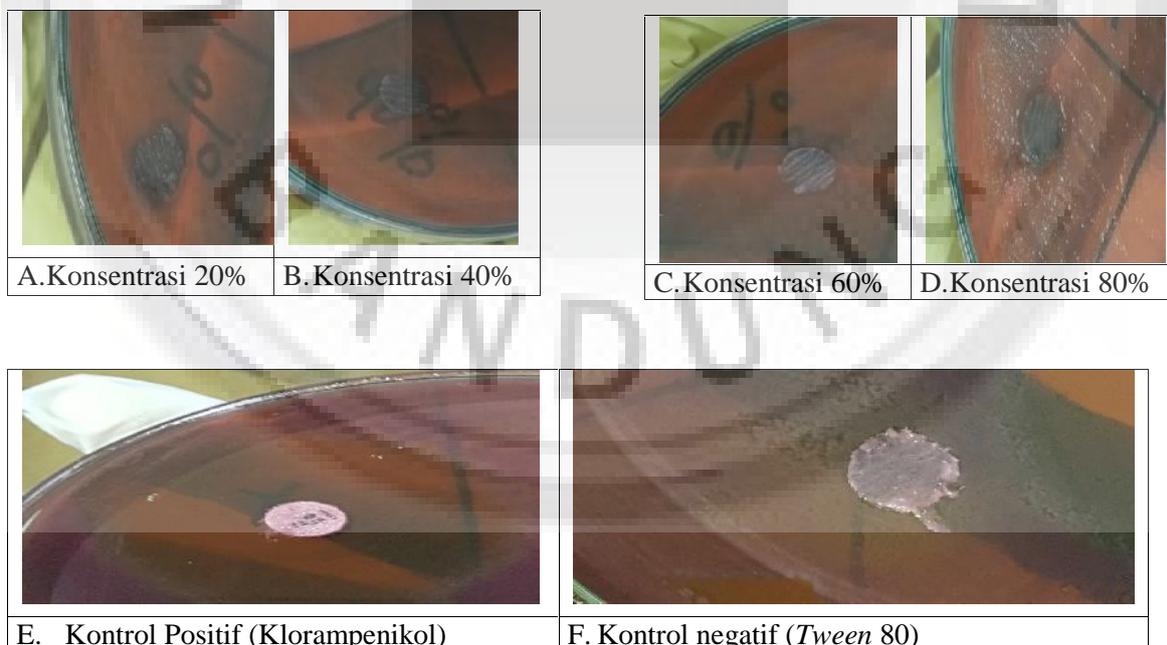
Flavonoid berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah kemudian mengalami peruraian yang diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein sel dan membran sitoplasma mengalami lisis (Hollman, 2004).

Pada tahun 2013 menggunakan sediaan perasan daun sirsak menunjukkan adanya positif zona hambat. Hal ini terlihat dari zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang telah ditetesi air perasan daun sirsak dengan konsentrasi 25% menunjukkan zona hambat sebesar 7,25 mm dimana termasuk respon zona hambat kuat, sedangkan konsentrasi 100% menunjukkan zona hambat sebesar 10,325 mm dimana termasuk respon zona hambat kuat (Permatasari dkk, 2013).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Hasil Penelitian Zona Hambat

Penentuan zona hambat dilakukan empat kali pengulangan dengan menggunakan metode difusi agar modifikasi Kirby-Bauer. Konsentrasi fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata Linn*) yang digunakan adalah 20%, 40%, 60%, dan 80%. Klorampenikol digunakan sebagai kontrol positif, Tween 80 sebagai kontrol negatif. Data penelitian didapatkan dari pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong. Gambar hasil uji difusi fraksi etil asetat daun sirsak terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada gambar 1.1.



Gambar 1.1 Ukuran Diameter Zona Hambat (mm) Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksi Etil Asetat yang Berbeda Terhadap *Escherichia Coli* ATCC 25922

Keterangan : A= Uji difusi Kirby-Bauer Konsentrasi 20%

- B= Uji difusi Kirby-Bauer Konsentrasi 40%
 C= Uji difusi Kirby-Bauer Konsentrasi 60%
 D= Uji difusi Kirby-Bauer Konsentrasi 80%
 E= Uji difusi Kirby-Bauer kontrol positif (klorampenikol)
 F= Uji difusi Kirby-Bauer Kontrol negatif (*Tween* 80)

Diameter rata-rata zona hambat fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dapat dilihat pada tabel 1.1.

Tabel 1.1 Ukuran Diameter Zona Hambat (Mm) Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksi Etil Asetat Yang Berbeda Terhadap *Escherichia Coli* ATCC 25922

Pengulangan	Konsentrasi Perlakuan					Kontrol (+)
	0%	20%	40 %	60%	80%	<i>Chloramphenicol</i>
Pengulangan 1	5	5	5	5	7	29
Pengulangan 2	5	5	5	5	7	29
Pengulangan 3	5	5	5	5	6	29
Pengulangan 4	5	5	5	5	8	29
Rata-rata	5	5	5	5	7	29

Uji Statistik

Sebelum dilakukan uji beda, dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk Test* untuk melihat apakah data terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji *Shapiro-Wilk* didapatkan bahwa data terdistribusi normal dengan nilai p 0,683 (nilai $p > 0,05$). Hasil uji normalitas zona hambat bakteri pada pemberian konsentrasi fraksi etil asetat yang berbeda terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada tabel 1.2.

Karena data terdistribusi normal, maka dilakukan uji *One Way Anova*. Hasilnya didapatkan bahwa nilai p 0,000 (nilai $p < 0,05$) yang menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada minimal sepasang kelompok perlakuan. Hasil uji *one way annova* zona hambat bakteri pada pemberian konsentrasi fraksi etil asetat yang berbeda terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada tabel 1.3.

Tabel 1.2 Uji Normalitas Zona Hambat Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksi Etil Asetat Yang Berbeda Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Kelompok	Nilai p
Kontrol Negatif	0,683
Konsentrasi 20%	
Konsentrasi 40%	
Konsentrasi 60%	
Konsentrasi 80%	
Kontrol Positif	

Tabel 1.3 Uji *One Way Anova* Zona Hambat Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksi Etil Asetat Yang Berbeda Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Kelompok	Nilai p
Kontrol Negatif	
Konsentrasi 20%	
Konsentrasi 40%	0,000
Konsentrasi 60%	
Konsentrasi 80%	
Kontrol Positif	

Untuk melihat perbedaan hambatan pertumbuhan bakteri pada seluruh kelompok dilakukan uji *post-hoc* (LSD), dan didapatkan hasil bahwa antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif dan konsentrasi 80% menunjukkan adanya perbedaan bermakna sehingga bisa disimpulkan bahwa kontrol positif dan konsentrasi 80% dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Antara kelompok kontrol positif dengan konsentrasi 80% menunjukkan adanya perbedaan bermakna sehingga bisa disimpulkan bahwa kontrol positif dengan konsentrasi 80% mempunyai daya hambat pertumbuhan bakteri yang berbeda. Antara kelompok konsentrasi 80% dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% menunjukkan adanya perbedaan bermakna sehingga bisa disimpulkan bahwa konsentrasi 80% dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% mempunyai daya hambat pertumbuhan bakteri yang berbeda. Hasil uji *post-hoc* (LSD) zona hambat bakteri pada pemberian konsentrasi fraksi etil asetat yang berbeda terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada tabel 1.4.

Tabel 1.4 Uji *Post-hoc* (LSD) Zona Hambat Bakteri Pada Pemberian Konsentrasi Fraksi Etil Asetat Yang Berbeda Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Perbandingan Antarkelompok	Nilai p
Kontrol negatif - Kontrol positif	0,000
Kontrol negatif - Konsentrasi 80%	0,000
Kontrol positif - Konsentrasi 80%	0,000
Konsentrasi 80% - Konsentrasi 20%	0,000
Konsentrasi 80% - Konsentrasi 40%	0,000
Konsentrasi 80% - Konsentrasi 60%	0,000

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian efektivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan adanya zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 80% dengan diameter rata-rata 7 mm dimana termasuk respon zona hambat *resistant* (Ortez, 2005). Perbedaan antara kelompok kontrol negatif dengan konsentrasi 80% menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan nilai p 0,000 (nilai p < 0,05). Belum ada penelitian yang mengemukakan terdapatnya efek antibakteri fraksi etil asetat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Penelitian sebelumnya pada tahun 2013 menggunakan sediaan lain daun sirsak yaitu perasan daun sirsak menunjukkan adanya positif zona hambat. Hal ini terlihat dari zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang telah ditetesi air perasan daun sirsak dengan konsentrasi 25% menunjukkan zona hambat sebesar 7,25 mm dimana termasuk respon zona hambat *resistant*, konsentrasi 50% menunjukkan zona hambat sebesar 8,25 mm dimana termasuk respon zona hambat *resistant*, konsentrasi

75% menunjukkan zona hambat sebesar 9,3 mm dimana termasuk respon zona hambat *resistant*, dan konsentrasi 100% menunjukkan zona hambat sebesar 10,325 mm dimana termasuk respon zona hambat *resistant*. Adanya efek antibakteri perasan daun sirsak terhadap *Escherichia coli* dikarenakan perasan daun sirsak memiliki kandungan zat aktif yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin (Permatasari dkk, 2013)

Perbedaan hasil ini dapat disebabkan karena komposisi yang berbeda antara perasan daun sirsak dengan fraksi etil asetat. Penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti *et al.* pada tahun 2016 bahwa fraksi etil asetat daun sirsak memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, quinon, tanin, steroid, dan triterpenoid tetapi tidak memiliki kandungan saponin, sehingga perbedaan kandungan ini dapat menyebabkan perbedaan efek antibakteri (Yuniarti dkk, 2016)

Menurut penelitian pada tahun 2012 menunjukkan bahwa saponin memiliki zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dimulai dari konsentrasi 0,5 mg/ml telah menunjukkan respon zona hambat sebesar 7,0 mm dimana termasuk respon zona hambat *resistant* sedangkan pada konsentrasi 5 mg/ml menunjukkan respon zona hambat sebesar 17,8 mm dimana termasuk respon zona hambat *intermediate* (Maatalah dkk, 2012)

Efek antibakteri dari senyawa saponin yang telah diteliti oleh Arabski *et al.* Pada tahun 2012 menunjukkan bahwa saponin memiliki daya antibakteri dengan mekanisme pelepasan enzim laktat dehidrogenase (LDH). Laktat dehidrogenase merupakan enzim sitosolik yang dapat merusak membran (Arabski dkk, 2012).

Penelitian-penelitian di atas menunjukkan bahwa senyawa saponin memiliki daya antibakteri yang bagus sehingga terdapat perbedaan zona hambat ketika diberikan sediaan perasan daun sirsak yang memiliki senyawa saponin dengan sediaan fraksi etil asetat yang tidak memiliki senyawa saponin terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dalam penelitian ini, peneliti menyimpulkan sebagai berikut:

1. Fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922 pada konsentrasi 80%.

E. Saran

Saran yang dapat diberikan peneliti berdasarkan penelitian yang dilakukan adalah:

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri daun sirsak dalam bentuk sediaan yang lain.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri sirsak menggunakan bagian tanaman yang lainnya.
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.
4. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* Lin) dengan menggunakan metode, medium, dan pelarut lain.

Daftar Pustaka

Alali, Feras Q, Liu X, Mclaughlin JL. 1999. *Invited Review: Annonaceous acetogenins: Recent Progress*. Rev Lit Arts Am. 504–40.

- Arabski, Michal, dkk. 2012. *Effects of Saponins Against Clinical Escherichia coli Strains And Eukaryotic Cell Line*. J Biomed Biotechnol.
- Brooks, Geo F., dkk. 2010. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, Edisi ke-26*. New York: McGraw Hill.
- Dutta, Sanjuncta, dkk. 2013. *Trends in The Prevalence of Diarrheagenic Escherichia coli Among Hospitalized Diarrheal Patients in Kolkata, India*. PLOS ONE. 8(2).
- Fazlani, S. A., dkk. 2011. *Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Species Identified From Mastitic Milk Samples of Camel*. African J Biotechnol. 10(15):2959–64.
- Hollman, Peter C. H. 2004. *Absorption, Bioavailability, and Metabolism of Flavonoids*. Pharm Biol. 42(s1):74–83.
- Kemenkes RI. 2011. *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan, Volume 2*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Kojima, Noto, T. Tanaka. 2009. *Medicinal Chemistry of Annonaceous acetogenins: Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Analogues*. Molecules. 14(9):3621–61.
- Lim, Chee Kint, dkk. 2013. *Effect of Tannic Acid On The Transcriptome Of The Soil Bacterium Pseudomonas protegens pf-5*. Appl Environ Microbiol. 79(9):3141–5.
- Maatalah, M. Benziane, dkk. 2012. *Antimicrobial Activity Of The Alkaloids And Saponin Extracts Of Anabasis Articulata*. Biotechnology and Pharmaceutical Research. 3:54-57.
- Mardiana, Lina, Juwita Ratnasari. 2010. *Ramuan dan Khasiat Sirsak Terbukti Secara Ilmiah Tumpas Kanker*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Ortez, J. H. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American society of microbiology. Atlanta.
- Permatasari, G. A., Besung, Hapsari. 2013. *Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Indonesia Medicus Veterinus. 2:162-169
- Pitout, Johan. 2014. *Escherichia coli*. China: E-Sun Technologies, Inc.
- Qadri, Firdausi, dkk. 2005. *Enterotoxigenic Escherichia coli in Developing Countries: Epidemiology, Microbiology, Clinical Features, Treatment, and Prevention*. American Society for Microbiology. 18(3):465–83.
- Ryan, Kenneth J. 2004. *Sherris Medical Microbiology, Edisi ke-4*. New York: McGraw Hill.
- Sari, Yeni Dianita, dkk. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (Annona muricata L.) Secara In Vitro Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923 dan Escherichia coli ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*. Kes Mas. 4(3):218–38.
- Sreedharan, R., C. A. Liacouras. 2016. *Nelson Textbook of Pediatrics, Edisi ke-20*. Philadelphia: Elsevier.
- Subekti, D. S., dkk. 2003. *Prevalence of Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) in Hospitalized Acute Diarrhea Patients in Denpasar, Bali, Indonesia*. Diagn Microbiol Infect Dis. 47(2):399–405.
- Yuniarti, Lelly, dkk. 2016. *Gardnerella vaginalis ATCC 14018 Resistant to Metronidazol and Soursop Leaves (Annona muricata Linn)*. 3(3):1–16.
- Zahera, Manaal, dkk. 2011. *Isolation, Identification and Characterization of Escherichia coli From Urine Samples and Their Antibiotic Sensitivity Pattern*. Eur J Exp Biol. 1(2):118–24.

Zoetendal, Erwin G., dkk. 2008. *The BaeSR Two-Component Regulatory System Mediates Resistance To Condensed Tannins In Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* 74(2):535–9.

