

Antibacterial Activity of Soursop Leaf Kombucha (*Annona muricata* L.) Against *Escherichia coli* Bacteria

Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Nadia Rahmasari ^a, Ismi Rahmawati ^{a*} and Opstaria Saptarini ^b

^a Department of pharmacy, Faculty of pharmacy, SetiaBudi University, surakarta, Jawa Tengah

*Corresponding Authors: Ismirahmawati@setiabudi.ac.id

Abstract

Infectious diseases caused by pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* are increasing, especially due to antibiotic resistance. One potential alternative treatment is the use of natural antibacterial compounds, such as those found in soursop leaves (*Annona muricata* L.). Soursop leaves contain various bioactive compounds, such as flavonoid polyphenols, acetogenins, and tannins, which have antibacterial activity. This study aims to of soursop leaf-based probiotic kombucha fermentation in inhibiting the growth of *Escherichia coli*. In this study, probiotic kombucha was produced through a fermentation process using Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY) with variations in temperature, time, and soursop leaf extract concentration parameters. Activity testing was carried out using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) methods to assess its antibacterial effectiveness. The results showed that soursop leaf kombucha fermentation had significant antibacterial activity against *Escherichia coli*. The disc diffusion activity test obtained in this study was 9.1 mm (15% concentration); 5.10 mm (10% concentration); and 2.3 mm (5% concentration) with different concentration variations on the 7th day of fermentation. The resulting inhibition zone diameter for *E. coli* bacteria indicates that kombucha's antibacterial activity is in the moderate category, as it produced the highest inhibition zone of 9.1 mm. This study demonstrates that soursop leaf kombucha has the potential to be developed as a functional probiotic beverage with effective and natural antibacterial effects.

Keywords: Probiotic kombucha, *Annona muricata* L., *Escherichia coli*

Abstrak

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Escherichia coli* semakin meningkat, terutama akibat resistensi antibiotik. Salah satu alternatif pengobatan yang berpotensi adalah penggunaan senyawa antibakteri alami, seperti yang terdapat dalam daun sirsak (*Annona muricata* L.). Daun sirsak mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti polifenol flavonoid, acetogenin, dan tanin, yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fermentasi kombucha probiotik berbasis daun sirsak dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Dalam penelitian ini kombucha probiotik dihasilkan melalui proses fermentasi menggunakan *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) dengan variasi parameter suhu, waktu dan jumlah konsentrasi ekstrak daun sirsak. Pengujian aktivitas dilakukan dengan metode Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) untuk menilai efektivitas antibakterinya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi kombucha daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Escherichia coli*. Uji aktivitas difusi cakram yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu masing-masing didapatkan sebesar 9,1 mm (konsentrasi 15%); 5,10 mm (konsentrasi 10%); dan 2,3 mm (konsentrasi 5%) dengan variasi konsentrasi yang berbeda pada waktu fermentasi hari ke-7. Diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *E.colli* tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri kombucha berada dalam kategori sedang karena menghasilkan zona hambat tertinggi 9,1 mm. Studi ini menunjukkan bahwa kombucha daun sirsak berpotensi dikembangkan sebagai/minuman fungsional probiotik dengan efek antibakteri yang efektif dan alam.

Kata Kunci: Kombucha probiotik, *Annona muricata* L., *Escherichia coli*



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 01/06/2025,
Revised: 30/10/2025,
Accepted: 30/10/2025,
Available Online: 30/12/2025..

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i4.996>

Pendahuluan

Infeksi bakteri pada manusia sebagian ditularkan dari patogen melalui makanan. Bakteri *Escherichia coli* menempati urutan bakteri yang paling umum yang menunjukkan tingkat kejadian sebesar 18-30% di Amerika Serikat dan Eropa. Sebaliknya, negara-negara maju melaporkan perkiraan tingkat kejadian sebesar 48 kasus per 100.000 populasi per tahun untuk infeksi *E. coli* [1]. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri gram-negatif yang umum ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan hewan berbentuk basil. Sebagian besar strain *E. coli* menyebabkan infeksi serius pada manusia, seperti infeksi saluran kemih (ISK), diare, hingga penyakit yang lebih berat seperti hemolitik uremik sindrom (HUS). Data dari Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menunjukkan peningkatan prevalensi *E. coli* yang resisten terhadap antibiotik lini pertama, seperti fluoroquinolone dan cephalosporin generasi ketiga [2].

Menurut Kemenkes RI (2018), di Indonesia sendiri kasus peresepan antibiotik yang tidak tepat mencapai 40-62%. Hal ini mendorong pencarian alternatif lain yang lebih aman untuk mengontrol infeksi oleh bakteri. Sumber obat dari bahan alami yang memiliki potensi sebagai antibakteri dengan efek samping yang relatif lebih sedikit. Salah satu tanaman yang terbukti memiliki aktivitas antimikroba adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L) [3]. Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) telah lama dikenal dalam pengobatan tradisional berbagai budaya untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk infeksi bakteri. Penggunaan ini didasari oleh kandungan senyawa bioaktif di dalam daun sirsak, seperti steroid, saponin, alkaloid, dan flavonoid, yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri in vitro pada beberapa penelitian [4].

Fermentasi kombucha dapat diproduksi dari daun-daun yang mengandung fenol tinggi yang dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional dan sebagai pengganti teh. Dalam percobaan ini dilakukan fermentasi daun sirsak menjadi kombucha sebagai salah satu strategi ilmiah untuk meningkatkan bioaktivitas dan bioavailabilitasnya yang didapatkan dari daun sirsak. Kandungan senyawa kimia daun sirsak seperti polifenol tinggi dan kandungan senyawa lain seperti steroid, terpenoid, flavonoid, alkaloid dan tanin sangat berpotensi digunakan sebagai substrat untuk pembuatan kombucha. Proses Fermentasi oleh mikroorganisme kombucha memiliki fungsi dapat meningkatkan ketahanan tubuh, sebagai antioksidan dan antimikroba pada beberapa penyakit infeksi. Teh hitam dan gula putih merupakan substrat yang baik dalam pembuatan kombucha [5] Berdasarkan dengan uraian diatas, maka dilakukan uji aktivitas antibakteri fermentasi kombucha daun sirsak terhadap *Escherichia coli* secara In vitro.

Metode Penelitian

Daun sirsak diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BPTO), Tawangmangu, Indonesia. Daun sirsak dibersihkan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat. Daun yang sudah dibersihkan dilakukan proses pengeringan menggunakan oven (Biobase). Simplisia kasar daun sirsak sebanyak 15 gram kemudian diseduh dengan cara direbus dalam 500 ml air.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu beaker gelas 500 ml (pyrex), batang pengaduk, cawang petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, spuit, autoklaf (HVE 50 Horayama), lampu bunsen, mikroskop inverted, LAF (luminal air flow) (ABL LAF90), inkubator (Bio-Base).

Pembuatan Kombucha

Air rebusan daun sirsak sebanyak 250 ml, ditambahkan gula sebanyak 10% dan disterilkan selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan 10% starter, tutup dan dibungkus dengan kain kasa. Fermentasi selama 7-15 hari dalam tempat gelap. Selama fermentasi dilakukan pengecekan pH meter mencapai $\text{pH} \pm 3$. Pembuatan kombucha probiotik daun sirsak ini dilakukan dengan menambahkan kultur isolat bakteri *Lactobacillus Acidophilus*, *Bifidobacterium Lactis*, dengan perbandingan (1:1:1) sebanyak 10% ke dalam starter kombucha daun sirsak. Inkubasi dilakukan dengan menggunakan lama waktu dan suhu yang berbeda-beda. Waktu yang dibutuhkan yaitu hari ke 7, 15, dan 21 dan suhu (15°C , 20°C , 25°C).

Uji fitokimia

Skринing fitokimia dilakukan untuk mendeteksi golongan senyawa yang terkandung di dalam sampel. Golongan senyawa yang akan dideteksi yaitu flavanoid, polifenol, fenolik, steroid, terpenoid, tanin, saponin dan alkaloid. Setiap uji diambil 1 ml kombucha daun sirsak. Uji Flavanoid dilakukan dengan menambahkan 5 tetes NaOH 0,5 M, kemudian di kocok. Indikator positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi oranye, kuning atau coklat. Uji Alkaloid dengan ditambahkan 2 tetes larutan pereaksi dragendrof. Reaksi positif ditandai dengan bentuk endapan menggumpal berwarna coklat oranye atau jingga. Uji Saponin dengan ditambahkan aquadest lalu dididihkan sampai panas dan ditambahkan HCl 2N lalu dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Reaksi positif menunjukkan terbentuknya buih yang stabil selama ± 10 menit. Uji tanin dilakukan dengan ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman [6]. Uji fenolik dengan penambahan 2-3 tetes besi (III) (FeCl_3) 5%. Reaksi positif ditandai apabila menghasilkan warna biru kehitaman [7]. Uji polifenol ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1% ditunjukkan dengan perubahan warna hitam kebiruan atau hijau [8]. Uji steroid dan terpenoid ditetesi dengan 0,5 ml asam asetat dan 2 ml asam sulfat pekat. Hasil positif terbentuk warna kuning kecoklatan [9].

Pembuatan Fermentaasi Kombucha

Air rebusan daun sirsak sebanyak 250 ml, ditambahkan gula sebanyak 10% dan disterilkan selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan 10% starter, tutup dan dibungkus dengan kain kasa. Fermentasi selama 7-15 hari dalam tempat gelap. Selama fermentasi dilakukan pengecekan pH meter mencapai $\text{pH} \pm 3$. Pembuatan kombucha probiotik daun sirsak ini dilakukan dengan menambahkan kultur isolat bakteri *Lactobacillus Acidophilus*, *Bifidobacterium Lactis*, dengan perbandingan (1:1:1) sebanyak 10% ke dalam starter kombucha daun sirsak. Inkubasi dilakukan dengan menggunakan lama waktu dan suhu yang berbeda-beda. Waktu yang dibutuhkan yaitu hari ke 7, 15, dan 21 dan suhu (15°C , 20°C , 25°C).

Uji Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak

Penelitian ini dilakukan dengan metode difusi cakram dengan menyiapkan 3 cawan petri, dengan menuangkan 15 ml Mueller Hinton Agar (MHA) kedalam cawan petri, diamkan hingga memadat. Celupkan kapas steril ke dalam suspensi bakteri *Escherichia coli* yang telah diencerkan hingga 0,5 Mc Farland sehingga konsentrasinya menjadi 108CFU/ml. goreskan pada media MHA sampai permukaan tertutup seluruhnya, tempelkan piringan yang sudah direndam ke dalam larutan fermentasi kombucha daun sirsak dengan variasi konsentrasi tertentu yaitu pada cawan I 5%, cawan II 10%, cawan III 15%, cawan gelas IV diisi kontrol positif berupa antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif Aquades dilakukan proses uji antibakteri dengan cara paper disk (kertas cakram) direndam dalam larutan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% kemudian setelah perendaman 5-10 menit disk blank cakram dimasukkan pada cawan yang telah berisi media MHA sesuai peletakan cakram pada cawan yang telah ditandai tempatnya kemudian pengujian antibakteri dilakukan dalam 3 pengulangan dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu (37°C) untuk melihat hasil zona hambat pada lingkaran kertas cakram dan dilihat hasil setelah inkubasi dari setiap perlakuan dan pengulangan sampel yang dilakukan dalam 3 kali ulangan pada hari ke-1 ke-7 dan ke-14 pada masing-masing konsentrasi fermentasi kombucha probiotik daun sirsak. Hasil pengamatan diperoleh dengan zona hambat yang terbentuk disekeliling kertas cakram atau disblank menunjukkan hambatan pada pertumbuhan bakteri *E. Coli* [10].

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Maksimum (KBM)

Dilakukan dengan menggunakan metode dilusi. Stok fermentasi kombucha daun sirsak dengan dilarutkan menggunakan DMSO 5%. Dilakukan dengan 3 tabung, pada konsentrasi %, 10%, dan 20% 78 mg/mL, kontrol (+) dan kontrol (-). Media BHI dimasukkan 0,5 mL pada tiap tabung. Secara aseptis, masukkan

1 mL larutan stok yang akan diuji pada tabung. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Kemudian diamati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng.

Analisis Data

Analisis ini dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS. Uji parametrik berupa One Way ANOVA Apabila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, maka dapat diuji non parametrik berupa Kruskal Wallis. Apabila hasil uji One Way ANOVA menunjukkan Sig. <0,05 maka terdapat perbedaan signifikan sedangkan jika data menunjukkan hasil Sig. >0,05 maka tidak terdapat perbedaan signifikan. Selanjutnya data tersebut dilakukan Uji Post Hoc untuk mengetahui perbedaan nilai yang signifikan pada kelompok perlakuan.

Hasil Dan Pembahasan

Pembuatan Kombucha Daun Sirsak

Berdasarkan hasil uji pembuatan kombucha daun sirsak yang diperoleh dari percobaan memiliki ketebalan lapisan scoby atau nata yang dapat ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Kombucha Daun Sirsak

Sampel	Perlakuan	Ketebalan Nata
Kombucha	5%	0,32 cm
Daun Sirsak	10%	0,40 cm
	15%	15 cm

Mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi kombucha yakni bakteri asam asetat (*Acetobacter sp*) dan yeast. Yeast akan mengawali proses fermentasi dengan mengubah gula (sukrosa) menjadi alkohol dan senyawa lainnya, kemudian dilanjutkan dengan mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat dan asam organik oleh bakteri asam asetat (*Acetobacter sp*) [11]. Dalam hasil percobaan yang didapatkan sesuai dengan referensi dari jurnal dan buku bahwa nutrisi yang diperlukan untuk fermentasi alkohol adalah gula sederhana, pada umumnya gula yang mudah digunakan oleh kelompok khamir adalah glukosa pH fermentasi menentukan aktivitas optimal mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi alkohol [12]. Selama proses fermentasi kombucha daun sirsak menghasilkan asam-asam organik, alkohol dan beberapa zat lainnya, keberadaan asam organik mengakibatkan kadar senyawa fenolik meningkat selama proses fermentasi sehingga senyawa fenolik dan asam ini mudah terhidrolisis. Perubahan antioksidan selama fermentasi akibat terjadi pemecahan senyawa fenolik pada kondisi asam dan adanya enzim dari mikroorganisme yang mampu meningkatkan senyawa fenolik selama fermentasi. Pada penelitian selama proses fermentasi kombucha, senyawa katekin memiliki empat isomer yaitu, epikatekin diantaranya apigalokatekin galat, epikatekin galat, epigalokatekin dan epikatekin [13].

Pada fermentasi kombucha ini juga dihasilkan lapisan putih (nata) sebagai produk sampingannya. Nata yang terbentuk yaitu berupa serat putih yang mengapung dipermukaan bagian atas. Menurut Aditiawati dan Kusnadi (2013) bakteri *acetobacter xylinum* mampu mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan asam organik lain pada waktu yang bersamaan. Selain itu, *acetobacter xylinum* juga dapat mensintesis glukosa menjadi polisakarida atau selulosa yang berupa serat-serat putih. Selulosa membentuk lapisan nata secara bertahap hingga mencapai ketebalan kurang lebih sekitar 15 cm pada akhir fermentasi yang dapat digunakan sebagai inokulum pada proses fermentasi selanjutnya.

Skrining Fitokimia Kombucha Daun Sirsak

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung pada tanaman. Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan terhadap kombucha daun sirsak. Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini bahwa kombucha daun sirsak mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, polifenol, steroid, terpenoid dan fenolik yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Skrining fiokimia kombucha daun sirsak

Sampel	Parameter uji	Perubahan warna	Hasil
Kombucha Daun sirsak	Alkaloid	Adanya endapan berwarna putih kecoklatan	+
	Flavanoid	Warna oranye, kuning atau coklat	+
	Saponin	Adanya buih (busa) stabil selama ± 10 menit	+
	Fenolik	Biru Kehitaman	+
	Tanin	Hijau kehitaman atau biru kehitaman	+
	Polifenol	Biru kehitaman atau hijau	+
	Steroid dan terpenoid	Kuning kecoklatan	+

Berdasarkan hasil dari beberapa penelitian terdahulu bahwa penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yaitu ekstrak daun sirsak mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, tanin, saponin, steroid dan flavanoid [14]. Senyawa-senyawa tersebut diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga dapat dijadikan sebagai terapi komplementer antiinflamasi dan antibakteri. Terbukti bahwa pada penelitian yang dilakukan oleh Rahma *et.al* (2016) ekstrak etanol daun sirsak mengandung senyawa seperti alkaloid, terpenoid, steroid, flavanoid, tanin dan alkaloid terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* [15].

Uji Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram yang berfungsi sebagai tempat zat antimikroba dengan menggunakan bakteri *E.colli* sebagai gram negatif. Bakteri tersebut digunakan karena mudah ditumbuhkan dalam kondisi pertumbuhan yang berbeda sehingga lebih mudah digunakan sebagai model untuk mengamati aktivitas antibakteri [16]. Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan kombucha daun sirsak dilakukan dengan metode difusi cakram (disk diffusion method), yaitu metode yang mengandalkan kemampuan suatu senyawa antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media padat. Dalam uji ini, cakram kertas steril yang telah ditetesi dengan filtrat kombucha daun sirsak difermentasi selama beberapa hari yaitu pada hari ke-7, 15 dan 21. Kemudian diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri *E. coli*. Setelah dilakukan inkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C, diamati zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram sebagai indikator adanya aktivitas antibakteri.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh bahwa zona hambat kombucha daun sirsak masing-masing didapatkan sebesar 9,1 mm (konsentrasi 15%); 5,10 mm (konsentrasi 10%); dan 2,3 mm (konsentrasi 5%) dengan variasi konsentrasi yang berbeda pada waktu fermentasi hari ke-7. Konsentrasi 15% menunjukkan kategori zona hambat tertinggi sedangkan terendah sebesar 2,3 mm pada konsentrasi 5%. Diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *E.colli* tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri kombucha berada dalam kategori sedang karena menghasilkan zona hambat tertinggi 9,1 mm [17].

Dalam hasil pengamatan menunjukkan bahwa kombucha daun sirsak mampu membentuk zona hambat terhadap *E. coli*, meskipun dengan diameter yang lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik standar, yaitu kloramfenikol. Kombucha yang difermentasi selama 14 hari, misalnya, menunjukkan zona hambat sebesar 10–12 mm, sedangkan kloramfenikol (sebagai kontrol positif) membentuk zona hambat sebesar 25–30 mm. Hasil ini mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif yang terbentuk selama fermentasi, seperti asam organik (misalnya asam asetat, asam glukonat), flavonoid, dan senyawa fenolik yang berasal dari daun sirsak berkontribusi terhadap aktivitas antimikroba tersebut [18]. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan kombucha cenderung bersifat bakteriostatik, sementara kloramfenikol bekerja secara bakterisidal dengan menghambat sintesis protein pada subunit ribosom 50S *E. Coli* [19].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil temuan ini, kombucha daun sirsak memiliki efektivitas yang lebih baik dalam menghambat aktivitas antibakteri *E. coli* dengan zona hambat sebesar 9,1 mm pada konsentrasi 15% selama waktu fermentasi 15 hari dengan penyimpanan suhu sebesar 25°C.

Conflict of Interest

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan.

Referensi

- [1] Baswendra Triadi, Suwarno Suwarno, Suryanie Sarudji, Ratna Damayanti, Rahmi Sugihartuti, Agnes Theresia Soelih Estoepangesti. Antibiotic sensitivity test of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from the reproductive tract of dairy cows. *Ovozoa: Journal of Animal Reproduction* 2022;11:72–80. <https://doi.org/10.20473/ovz.v11i2.2022.72-80>.
- [2] Permenkes RI. Pedoman Penggunaan Antibiotik. Permenkes RI 2021:1–97.
- [3] Jensen K, Günther J, Talbot R, Petzl W, Zerbe H, Schuberth HJ, et al. *Escherichia coli*- and *Staphylococcus aureus*-induced mastitis differentially modulate transcriptional responses in neighbouring uninfected bovine mammary gland quarters. *BMC Genomics* 2013;14. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-36>.
- [4] Rizky VA, Siregar S, Krisdianilo V, Khadijah S. Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirsak *Annona muricata* Linn Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar* 2024;9:105–12.
- [5] Bannerman DD, Paafe MJ, Lee JW, Zhao X, Hope JC, Rainard P. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:463–72. <https://doi.org/10.1128/CDLI.11.3.463-472.2004>.
- [6] Iskandar D, Ananda D, Putri M, Hidayani R. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Malapari (*Pongamia pinnata* L. Pierre) Pada Pelarut Etanol dan n-Heksana Sebagai Kandidat Sunscreen. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Dasar* 2024;6:107–14. <https://doi.org/10.37216/badaa.v6i1.1400>.
- [7] Merlin, Runtuwene M, Kamu V. Kandungan Total Fenolik Dan Uji Toksisitas Daun Muharang Bawine (*Dendrophthoe falcate* (Lf) Etinggsh) Dengan Metode BLST (Brine Shrimp Lethality Test). *Chemistry Progress* 2020;13. <https://doi.org/10.35799/cp.13.1.2020.28830>.
- [8] Nabilla A, Advinda L. Antimicrobial Activities Of Solid Soap Against *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Human Pathogen Bacteria. *Serambi Biologi* 2022;7:306–10.
- [9] Mastuti S. Potensi Bakteriosin pada Bakteri Asam Laktat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada* 2022;11:25–30. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v11i1.650>.
- [10] Putri AK, Sabrina. Potensi kombucha sebagai minuman probiotik dan sumber antioksidan. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan* 2024;10:37–44.
- [11] Nurhayati N, Yuwanti S, Urbahillah A. Karakteristik Fisikokimia Dan Sensori Kombucha Cascara (Kulit Kopi Ranum). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan* 2020;31:38–49. <https://doi.org/10.6066/jtip.2020.31.1.38>.
- [12] Hanum, Farrah Fadhillah; Rahayu, Aster; Hapsauqi I. The Comparison Effects of NaOH and KOH as Solvents for Silica Extraction from Two Different Coal Fly Ashes. *Indonesian Journal of Chemical Research* 2021;9:129–36. <https://doi.org/10.30598/ijcr>.
- [13] Pelealu E, Wewengkang DS, Abdullah SS. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Spons *Leucetta chagosensis* Dari Perairan Pulau Mantehage Sulawesi Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacon* 2021;10:834. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.34032>.
- [14] Purnamasari F. Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *Window of Health: Jurnal Kesehatan* 2021;04:231–7. <https://doi.org/10.33096/woh.v4i03.234>.
- [15] Rahman FA, Haniastuti T, Utami TW. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* 2017;3:1. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>.
- [16] Coria-Téllez A V., Montalvo-González E, Yahia EM, Obledo-Vázquez EN. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry* 2018;11:662–91. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.01.004>.
- [17] Gilliland SE, Staley TE, Bush LJ. Importance of Bile Tolerance of *Lactobacillus acidophilus* Used as a Dietary Adjunct. *J Dairy Sci* 1984;67:3045–51. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81670-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81670-7).
- [18] Bria DI, Missa H, Sombo IT. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Bahan Pangan Berbasis Daging Di Kota Kupang PENDAHULUAN Berdasarkan Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 1996 tentang Pangan dan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2004. *Jurnal Sains Dan Terapan* 2022;1:82–9.
- [19] Nabilla A, Advinda L. Antimicrobial Activities Of Solid Soap Against *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Human Pathogen Bacteria. *Serambi Biologi* 2022;7:306–10.