

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT PISANG
MULI (*Musa acuminata*) TERHADAP *METHICILLIN*
*RESISTANT Staphylococcus aureus***

(Skripsi)

Oleh
LULU WILDA NURANI



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT PISANG
MULI (*Musa acuminata*) TERHADAP *METHICILLIN*
*RESISTANT Staphylococcus aureus***

Oleh

LULU WILDA NURANI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MULI BANANA (*Musa acuminata*) PEEL EXTRACT AGAINST METHICILLIN RESISTANT *Staphylococcus aureus*

By

LULU WILDA NURANI

Background: MRSA infection is a global health problem so it needs to develop synthetic or natural antibacterials as an effort to overcome the problem. The muli banana peel contains potentially antibacterial compounds such as flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, and terpenoids. The purpose of this study is to determine the antibacterial activity of muli banana peel extract (*Musa acuminata*) against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Method: The design of this study was true experimental descriptive, with a post-test control group design. This study examined the antibacterial activity of muli banana peel extract at concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, and 6.25% against MRSA bacteria by measuring inhibition zone, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC).

Result: The results of this study show that muli banana extract has antibacterial activity against MRSA with the average diameter of inhibition zone ranging from 23,963 mm to 11,075 mm. The MIC obtained at concentrations of 6.25% and MBC at extract with concentration 50%. One-Way Anova test obtained p value = 0,000 ($p < 0.05$) which means there is a meaningful comparison.

Conclusion: There is antibacterial activity of muli banana peel extract (*Musa acuminata*) against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Keyword: antibacterial activity, *methicillin resistant Staphylococcus aureus*, muli banana peel

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT PISANG MULI (*Musa acuminata*) TERHADAP *METHICILLIN RESISTANT* *Staphylococcus aureus*

Oleh

LULU WILDA NURANI

Latar Belakang: Infeksi MRSA merupakan masalah kesehatan global sehingga perlu mengembangkan antibakteri baik sintesis maupun alami sebagai salah satu usaha untuk mengatasinya. Kulit pisang muli mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Metode Penelitian: Desain penelitian ini adalah deskriptif eksperimental murni, dengan rancangan *post-test control group*. Penelitian ini menguji aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% terhadap bakteri MRSA dengan mengukur zona hambat, konsentrasi hambat minimal (KHM), dan konsentrasi bunuh minimal (KBM).

Hasil Penelitian: Hasil penelitian ini menunjukkan adanya daya hambat ekstrak kulit pisang muli terhadap MRSA dengan rerata diameter zona hambat berkisar antara 23,963 mm sampai 11,075 mm. Untuk KHM didapatkan pada konsentrasi 6,25% dan KBM pada konsentrasi 50%. Uji *One-Way Anova* didapatkan nilai $p=0,000$ (nilai $p<0,05$) yang berarti terdapat perbandingan yang bermakna.

Simpulan Penelitian: Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Kata Kunci: aktivitas antibakteri, *methicillin resistant Staphylococcus aureus*,
kulit pisang muli

Judul Proposal Penelitian : **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
KULIT PISANG MULI (*Musa acuminata*)
TERHADAP METHICILLIN RESISTANT
*Staphylococcus aureus***

Nama Mahasiswa : Lulu Wilda Nurani

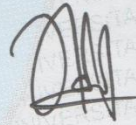
No. Pokok Mahasiswa : 1418011119

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



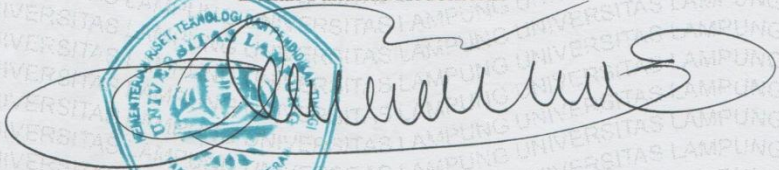

dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes
NIP. 197609032005012001


dr. Syahrul Hamidi Nasution, S.Ked
NIP.

MENGETAHUI

Dekan Fakultas Kedokteran




Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp. PA
NIP. 197012082001121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes

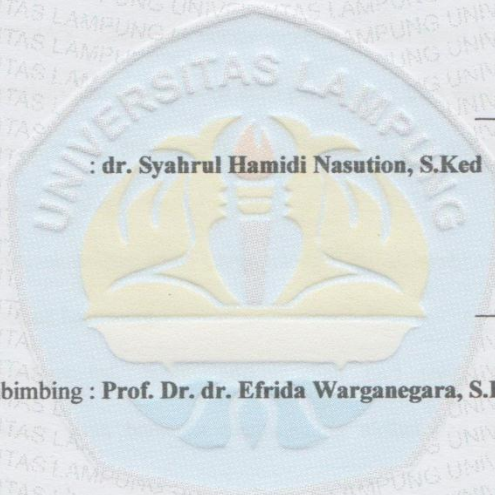
Sekretaris : dr. Syahrul Hamidi Nasution, S.Ked

**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. dr. Efrida Warganegara, S.Ked., M.Kes., Sp.MK**

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes., Sp. PA
NIP. 197012082001121001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 1 Februari 2018



LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul : **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT PISANG MULI (*Musa acuminata*) TERHADAP *METHICILLIN RESISTANT Staphylococcus aureus*** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai etik ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 1 Februari 2018
Pembuat pernyataan,




Lulu Wilda Nurani

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Tangerang, pada tanggal 04 Januari 1996 sebagai anak sulung dari keluarga Bapak Mohamad Yasin dan Ibu Ati Subagiati. Penulis memiliki empat adik laki-laki yang bernama Muhamad Fathul Bary, Dandy Fathurahman, dan Hilmy Rabbani.

Penulis mengikuti pendidikan di Taman Kanak-kanak (TK) Darul Huda pada tahun 2000-2002, Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri Kadu Sempur pada tahun 2002-2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 1 Curug pada tahun 2008-2011, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 8 Tangerang pada tahun 2011-2014.

Penulis diterima di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2014. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif dalam organisasi PMPATD Pakis Rescue Team sebagai anggota muda (2014-2016) dan bendahara umum (2016-2017), FSI Ibnu Sina sebagai anggota (2014-2017), dan Lampung University Medical Research (Lunar) sebagai anggota (2014-2016). Selain itu, penulis juga merupakan bagian dari tim asisten dosen patologi klinik tahun 2016-2017.

Laa hawla wa laa quwwata illa billah

“Tiada usaha, kekuatan, dan upaya selain dengan kehendak Allah”

Kupersembahkan karya yang dibuat dengan kesungguhan ini untuk:

Ayah dan Mamah tercinta,

Mohamad Yasin dan Ati Subagiati

yang telah mengizinkan dan mendukung anaknya untuk memilih jalan sesuai apa yang diinginkan.

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkat, rahmat, dan hidayah-Nya lah skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat serta salah semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad shallallahu 'alaihi wa sallam.

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Pisang Muli (*Musa acuminata*) terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*” ini adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Universitas Lampung. Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat dukungan, bimbingan, kritik, dan saran dari berbagai pihak. Maka dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes., selaku pembimbing 1 yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, dukungan, dan masukan kepada penulis selama proses penelitian dan pembuatan skripsi.
4. dr. Syahrul Hamidi Nasution, S.Ked., selaku pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, dukungan, dan masukan kepada penulis selama proses penelitian dan pembuatan skripsi.

5. Prof. Dr. dr. Efrida Warganegara, S.Ked., M.Kes., Sp. MK., selaku pembahas yang telah memberikan ilmu, masukan, dan saran yang sangat membantu dalam proses pembuatan skripsi ini.
6. dr. Hanna Mutiara, S.Ked., M.Kes., selaku pembimbing akademik yang telah memberikan arahan dan motivasi dalam bidang akademik.
7. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, atas ilmu dan wawasan yang telah diberikan kepada penulis.
8. Ayahanda Mohamad Yasin dan Ibunda Ati Subagiati, atas semua do'a, restu, dukungan, motivasi, kasih sayang, dan kesabaran yang selalu diberikan selama ini. Semoga Lulu bisa menjadi anak yang bisa membahagiakan dan membanggakan.
9. Adik-adik tersayang Muhamad Fathul Bary, Dandy Fathurahman, dan Hilmy Rabbani serta keluarga besar yang selalu memberikan dukungan dan motivasi dalam menjalani semua proses untuk menjadi lebih baik.
10. Teman-teman yang kebersamai selama masa perkuliahan, Vermitia, Natasya Hayatillah, Leni Amelia, Vika Annisa Putri, Osy Lu'lu Alfarossi, dan Ratu Faradhilla, yang terus membantu, memotivasi, menemani, dan saling mendo'akan.
11. Teman-teman yang bersama-sama berjuang di laboratorium mikrobiologi, Febe Sintia, Fairuz Nabila Afia, Iffat Taqiyyah, dan Brigita Sanina, atas kerjasama, bantuan, dan dukungan selama melakukan penelitian. Semoga usaha yang telah dilakukan dapat menjadi berkah bagi kita semua.
12. Teman-teman Kampus Hijau Residen, Anugerah Indah Sari, Fistana Bella, Aulia Ulfa Raydian, Dzulfiqar, M. Izzuddin Adha, Achmad Agus Purwanto,

M. Yogi Maryadi, dan Ilhamsyah Putra, yang telah memberi semangat dan bantuan selama menyelesaikan skripsi ini.

13. Mba Romi dan Mba Eka yang telah membantu selama melakukan penelitian di laboratorium mikrobiologi.
14. Presidium PMPATD Pakis Rescue Team periode 2016-2017, Ramadirga Thio Saba, Rama Agung Prakasa, dan Pertiwi Permata Putri, yang telah memberikan semangat dan kerjasama yang baik.
15. Keluarga besar PMPATD Pakis Rescue Team, FSI Ibnu Sina, dan Lunar yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan pengalaman berorganisasi.
16. Teman-teman seperjuangan angkatan 2014, atas kebersamaan, kerjasama, dan pengalaman selama ini. Semoga kita bisa bahu membahu dalam kebaikan dan dapat menjadi dokter yang memberikan manfaat bagi banyak orang.
17. Adik-adik angkatan 2015, 2016, dan 2017, atas dukungan dan do'anya. Semoga bisa menjadi dokter yang dapat bekerjasama untuk memajukan kesehatan bangsa.
18. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu yang telah membantu, memberikan pemikiran, dan dukungannya dalam pembuatan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi perbaikan skripsi ini.

Bandar Lampung, 1 Februari 2018
Penulis,

Lulu Wilda Nurani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.1.1 Klasifikasi Ilmiah	6
2.1.2 Morfologi dan Identifikasi	6
2.1.3 Patologi.....	8
2.1.4 Pemeriksaan Laboratorium	10
2.1.5 Resistensi <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.2 Pisang Muli (<i>Musa acuminata</i>)	14
2.2.1 Klasifikasi Ilmiah	14
2.2.2 Gambaran Umum	14
2.2.3 Kandungan Kulit Pisang.....	15
2.2.4 Metode Ekstraksi Kulit Pisang muli (<i>Musa acuminata</i>).....	17
2.3 Uji Aktivitas Antibakteri	19
2.4 Kerangka Teori	23
2.5 Kerangka Konsep.....	24
2.6 Hipotesis	25
BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	26

3.3 Populasi dan Sampel.....	26
3.4 Variabel Penelitian.....	27
3.4.1 Variabel Independen	27
3.4.2 Variabel Dependen	28
3.5 Definisi Operasional	29
3.6 Bahan dan Alat Penelitian	30
3.6.1 Bahan Uji.....	30
3.6.2 Bakteri Uji	30
3.6.3 Media Kultur	30
3.6.4 Alat-Alat yang Digunakan	30
3.7 Prosedur Penelitian	32
3.7.1 Sterilisasi Alat	33
3.7.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang	33
3.7.3 Pembuatan Media	34
3.7.4 Identifikasi dan Isolasi <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>	34
3.7.5 Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Pisang muli (<i>Musa acuminata</i>).....	36
3.7.6 Uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM)	37
3.7.7 Uji Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM)	37
3.8 Analisis Data.....	38
3.9 Etika Penelitian.....	38

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil.....	39
4.1.1 Identifikasi <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>	39
4.1.2 Hasil Uji Daya Hambat	40
4.1.3 Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM)	41
4.1.4 Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM)	42
4.1.5 Hasil Analisis Univariat.....	43
4.1.6 Hasil Analisis Bivariat	44
4.2 Pembahasan	45

BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan.....	52
5.2 Saran	52

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Interpretasi Zona Hambat dan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) pada Uji Kerentanan <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2. Definisi Operasional Penelitian.....	29
3. Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Pisang Muli (<i>Musa acuminata</i>) terhadap Pertumbuhan <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>	41
4. Hasil Uji Kadar Hambat Minimal (KHM) Ekstrak Kulit Pisang Muli (<i>Musa acuminata</i>) terhadap <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>	42
5. Hasil Uji Kadar Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak Kulit Pisang Muli (<i>Musa acuminata</i>) terhadap <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>	42
6. Hasil Analisis Univariat Zona Hambat	43
7. Hasil Analisis Uji <i>Post Hoc Tamhane</i>	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Staphylococcus aureus</i> pada Pewarnaan Gram.....	7
2. Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada Cawan Agar Darah	7
3. Diagram Alur Kerangka Teori	23
4. Diagram Konsep Penelitian	24
5. Diagram Alur Prosedur Penelitian	32
6. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Pisang Muli (<i>Musa acuminata</i>) terhadap MRSA Berdasarkan Kategori Davis Stout.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Bakteri Uji Didapatkan Dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik Departemen Mikrobiologi FKUI
- Lampiran 2 Surat *Ethical Clearance*
- Lampiran 3 Proses Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Muli
- Lampiran 4 Identifikasi Bakteri Uji
- Lampiran 5 Uji Zona Hambat
- Lampiran 6 Uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM)
- Lampiran 7 Uji Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM)
- Lampiran 8 Hasil Analisis Data Penelitian

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan resistensi bakteri berlangsung secara cepat dan menjadi permasalahan serius yang mengancam kesehatan. Penyebarannya di seluruh dunia menjadi masalah global yang perlu mendapatkan perhatian. Resistensi bakteri terhadap antibiotik sudah diperingatkan oleh Alexander Fleming, yang merupakan penemu penisilin, dalam sambutannya di *Nobel Prize* tahun 1945 (WHO, 2014). Perkembangan resistensi bakteri tidak terlepas dari penggunaan antibiotik yang berlebihan, persepsian yang tidak tepat, penggunaan antibiotik yang luas di bidang agrikultur, ketersediaan antibiotik baru yang sedikit, dan hambatan regulasi untuk mengembangkan antibiotik baru (Ventola, 2015). Akibatnya, morbiditas dan mortalitas akibat infeksi bakteri serta biaya kesehatan meningkat (WHO, 2014).

Salah satu jenis bakteri resisten yang memiliki dampak kesehatan yang signifikan di seluruh dunia adalah *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA menyebabkan infeksi terutama yang terjadi di rumah sakit (*hospital-acquired infections*, HA-MRSA). Namun, dalam beberapa dekade terakhir infeksi MRSA yang terjadi di komunitas (*community-acquired infections*, CA-MRSA) juga mengalami peningkatan (WHO, 2014).

Di Amerika, diperkirakan terjadi 93.460 kasus infeksi MRSA yang menyebabkan lebih dari 18.000 kematian pada tahun 2005. Di sisi lain, secara regional Asia merupakan wilayah dengan prevalensi HA-MRSA dan CA-MRSA tertinggi di dunia. Sebagian besar rumah sakit di Asia merupakan endemik MRSA dengan proporsi yang diperkirakan antara 28% sampai lebih dari 70% pada awal tahun 2010 (Chen dan Huang, 2014). Berdasarkan hasil program surveilans resistensi regional Asia Pasifik pada tahun 2011, persentase MRSA di Indonesia sebesar 28% (Mendes dkk., 2013). Di Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek (RSUDAM) Lampung, dari 68 sampel yang diambil dengan melakukan *swab* hidung pada tenaga medis dan paramedis di ruang *Intensive Care Unit* (ICU) dan perawatan bedah didapatkan adanya MRSA positif sebanyak 38,24% (Mahmudah dkk., 2013).

Antibiotik pilihan untuk tatalaksana infeksi MRSA adalah vankomisin. Namun, penggunaan antibiotik ini kini masih menjadi kontroversi. Hal ini dikarenakan adanya penurunan kepekaan *in vitro* MRSA terhadap vankomisin yang berhubungan dengan kegagalan pengobatan (Karchmer dan Bayer, 2008). Oleh karena itu, diperlukan usaha agar permasalahan ini tidak terus berkembang misalnya dengan mengontrol penggunaan antibiotik, mengembangkan penelitian yang berhubungan dengan mekanisme resistensi, dan mengembangkan agen antibakteri baru baik sintetis maupun alami (Green dkk., 2012; Karchmer dan Bayer, 2008).

Salah satu bahan alami yang dapat dikembangkan sebagai antibakteri adalah *Musa sp.* (Musaceae) atau yang kita kenal dengan pisang. Pisang mengandung hasil metabolisme sekunder tumbuhan yang terbukti mempunyai sifat antibakteri misalnya flavonoid, glikosid, alkaloid, saponin, terpenoid, dan tanin (Ehiowemwenguan dkk., 2014). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) merupakan sumber potensial komponen bioaktif yang dapat berperan sebagai antibakteri (Apriasari dkk., 2015). Kulit pisang terbukti dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen termasuk *Staphylococcus aureus*. Penelitian Karupiah dkk. (2013) menunjukkan bahwa daun pisang memiliki aktivitas antibakteri terhadap patogen resisten yang menyebabkan infeksi nosokomial, salah satunya yaitu MRSA. Namun, literatur yang membahas penggunaan kulit pisang sebagai antibakteri terhadap MRSA masih terbatas, padahal kulit buah pisang juga kaya akan hasil metabolisme sekunder yang terbukti mempunyai efek antibakteri (Ehiowemwenguan dkk., 2014).

Berdasarkan uraian diatas, dapat diketahui bahwa infeksi MRSA merupakan masalah kesehatan global sehingga diperlukan usaha untuk mengatasinya. Salah satu usaha yang dapat dilakukan adalah mengembangkan antibakteri baik sintetis maupun alami. Diharapkan ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) dapat memberikan efek inhibisi dan bakterisidal terhadap MRSA. Oleh karena itu, penelitian ini melihat pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap MRSA.

1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang di atas dapat dirumuskan masalah penelitian yaitu apakah terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus*.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan diameter zona hambat ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus*;
2. Mengetahui konsentrasi hambat minimal (KHM) ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) yang mampu menghambat pertumbuhan *methicillin resistant Staphylococcus aureus*;
3. Mengetahui konsentrasi bunuh minimal (KBM) ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) yang mampu membunuh *methicillin resistant Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Penelitian ini bermanfaat bagi peneliti untuk menambah pengetahuan tentang tata cara penulisan karya ilmiah yang baik dan pengalaman dalam melakukan pengujian aktivitas antibakteri serta mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus*.

2. Bagi Institusi Pendidikan

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan informasi bagi ilmu pengetahuan di bidang kedokteran dan kesehatan.

3. Bagi Masyarakat

Penelitian ini dapat menambah pengetahuan masyarakat tentang manfaat lain kulit pisang muli dalam pengobatan.

BAB 2 **TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Klasifikasi Ilmiah

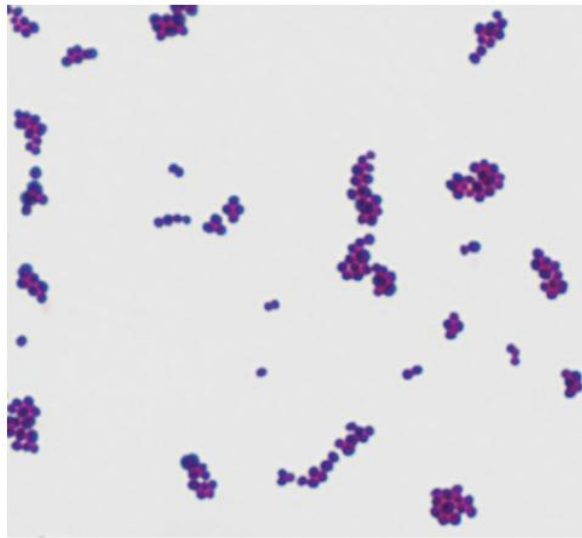
Menurut Warsa (2010), secara taksonomi klasifikasi *Staphylococcus aureus* yaitu:

Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.1.2 Morfologi dan Identifikasi

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk sferis yang biasanya bergerombol seperti buah anggur. Bakteri ini merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, dan berdiameter 0,8-1,0 mikron. Pada kultur bakteri, *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu antara 15°C sampai 40°C. Untuk pertumbuhan optimumnya yaitu pada suhu 35°C dengan pH 7,4. Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat dengan diameter

1-2 mm, cembung, buram, mengkilat, dan konsistensinya lunak. Koloni *Staphylococcus aureus* biasanya berwarna abu-abu hingga kuning tua kecoklatan. Pada lempeng agar darah, umumnya koloni lebih besar dan pada varietas tertentu koloninya dikelilingi oleh zona hemolisis (Warsa, 2010).



Gambar 1. *Staphylococcus aureus* pada Pewarnaan Gram (Brooks dkk., 2010)



Gambar 2. Koloni *Staphylococcus aureus* pada Cawan Agar Darah (Brooks dkk., 2010)

Staphylococcus mengandung polisakarida antigenik dan protein serta substansi penting lainnya di dalam struktur dinding sel. Penyusun dinding sel ini antara lain peptidoglikan, asam teikoat, dan protein A. Peptidoglikan adalah polimer polisakarida yang tersusun dari subunit-subunit yang merupakan eksoskelet yang kaku pada dinding sel. Asam teikoat, yang merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat, berhubungan dengan peptidoglikan dan dapat menjadi antigenik. Protein A adalah komponen dinding sel pada banyak strain Staphylococcus yang menjadi reagen penting dalam imunologi dan teknologi laboratorium diagnostik (Brooks dkk., 2010).

2.1.3 Patologi

Staphylococcus aureus merupakan patogen utama untuk manusia. Genus Staphylococcus dapat menyebabkan penyakit melalui kemampuannya untuk berkembang biak dan menyebar di jaringan serta dengan cara menghasilkan berbagai substansi ekstraselular. Substansi ekstraselular yang dihasilkan *Staphylococcus aureus* yaitu katalase, hialuronidase, stafilokinase, proteinase, lipase, β laktamase, eksotoksin, leukosidin, toksin eksfoliatif, toksin sindrom syok toksik, dan enterotoksin (Brooks dkk., 2010).

Infeksi *Staphylococcus aureus* bersifat oportunistik yang dalam kondisi tertentu dapat menyebabkan infeksi yang serius. *Staphylococcus aureus* umumnya berkolonisasi pada manusia di permukaan kulit luar dan

saluran pernapasan atas, terutama bagian hidung. Individu yang sehat biasanya tidak menyadari adanya *Staphylococcus aureus* tetapi dapat terkena infeksi kulit seperti bisul dan abses yang merupakan ciri khas infeksi *Staphylococcus aureus*. Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* meliputi pneumonia, meningitis, empiema, mastitis, infeksi kulit, osteomielitis, endokarditis, dan sepsis. *Staphylococcus aureus* yang memiliki daya invasi rendah dapat menyebabkan berbagai infeksi kulit misalnya akne, pioderma, atau impetigo. Infeksi luka bakar dan luka bedah juga biasanya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, dimana toksin yang diproduksi oleh bakteri ini dapat menimbulkan *toxic shock syndrome* yang menyebabkan demam, sakit, dan dalam beberapa kasus menyebabkan kematian (Stapleton dan Taylor, 2007; Brooks dkk., 2010).

Pada *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicillin* (*methicillin resistant Staphylococcus aureus*, MRSA), infeksi bisa berasal dari tempat pelayanan kesehatan (HA-MRSA) atau komunitas (CA-MRSA). Di komunitas, MRSA paling sering menyebabkan infeksi kulit. Pada beberapa kasus, infeksi MRSA menyebabkan pneumonia dan masalah lain. Jika tidak dilakukan tatalaksana, infeksi MRSA dapat menjadi berat dan menyebabkan sepsis. Di tempat pelayanan kesehatan, seperti rumah sakit atau klinik, MRSA dapat menyebabkan masalah yang berat seperti infeksi aliran darah, pneumonia, dan infeksi pada luka operasi (CDC, 2016).

2.1.4 Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilakukan diantaranya dengan melakukan kultur, uji katalase, uji koagulase, dan *Manitol Salt agar* (MSA). Spesimen yang ditanam pada agar darah akan membentuk koloni yang khas dalam 18 jam pada suhu 37°C. Koloni ini tidak menghasilkan pigmen dan hemolisis sampai beberapa hari kemudian dan dengan suhu ruangan yang optimal. *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol yang membedakannya dengan bakteri kokus Gram positif lainnya (Brooks dkk., 2010).

Pada uji katalase, setetes larutan hidrogen peroksida diletakkan ke gelas objek, dan sedikit pertumbuhan bakteri diletakkan pada larutan tersebut. Terbentuknya gelembung menandakan uji yang positif dimana terjadi pelepasan oksigen. Selain itu, uji katalase juga dapat dilakukan dengan menuangkan larutan hidrogen peroksida di atas bakteri yang tumbuh subur di agar miring dan meneliti gelembung yang muncul. Uji katalase membedakan *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Brooks dkk., 2010).

Untuk uji koagulase, plasma kelinci atau manusia yang mengandung sitrat diencerkan 1:5 dan dicampur dengan biakan kaldu atau pertumbuhan koloni pada agar dengan volume yang sama kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C. Tabung plasma yang dicampur dengan kaldu steril disertakan sebagai kontrol. Jika terbentuk bekuan dalam 1-4

jam, maka didapatkan hasil tes koagulase positif. Bekuan terbentuk karena adanya koagulase, protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat. Produksi koagulase dianggap sinonim dengan potensi patogenik invasif (Brooks dkk., 2010).

Pada uji kerentanan *Staphylococcus aureus*, antibiotik yang digunakan adalah *oxacillin* atau *cefoxitin*. Interpretasi zona hambat dan konsentrasi hambat minimal (KHM) yang didapatkan dari uji kerentanan *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik golongan *penicillinase-stable penicillins* ini dijelaskan pada Tabel 1.

Tabel 1. Interpretasi Zona Hambat dan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) pada Uji Kerentanan *Staphylococcus aureus*.

Antimikroba	Kriteria interpretasi diameter zona hambat (mm)			Kriteria interpretasi KHM ($\mu\text{g/mL}$)		
	S	I	R	S	I	R
Oxacillin	-	-	-	≤ 2	-	≥ 4
Cefoxitin (30 μg)	≥ 22	-	≤ 21	≤ 4	-	≥ 8

Sumber: (Patel dkk., 2015)

Hasil uji kerentanan terhadap obat tersebut dapat diterapkan pada obat-obat golongan penisilin yang stabil terhadap penisilinase lainnya yaitu *methicillin*, *cloxacillin*, *dicloxacillin*, *flucloxacillin*, dan *nafcillin*. Terdapat berbagai metode yang dapat digunakan pada uji kerentanan yaitu difusi cakram, dilusi broth, dan dilusi agar. Berdasarkan pedoman

CLSI (2015), inkubasi dapat dilakukan pada suhu $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, tetapi pengujian pada suhu lebih dari 35°C tidak dapat mendeteksi *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Inkubasi uji kerentanan dengan metode difusi cakram dilakukan selama 16-18 jam, sedangkan pada metode dilusi yaitu selama 16-20 jam kecuali pada uji *oxacillin* dan vankomisin yaitu 24 jam (Patel dkk., 2015).

2.1.5 Resistensi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus memiliki sensitivitas yang berbeda-beda terhadap antibiotik. Penatalaksanaan infeksi *Staphylococcus aureus* sebelum tahun 1950-an melibatkan pemberian benzil penisilin (penisilin G) yang merupakan antibiotik golongan β -laktam. Namun pada akhir 1950-an strain *Staphylococcus aureus* resisten terhadap benzil penisilin. Hal ini disebabkan oleh diproduksinya β -laktamase yang dapat menginaktivasi β -laktam oleh *Staphylococcus aureus*. Produksi β -laktamase ini dikendalikan oleh plasmid. Plasmid ditransmisikan melalui transduksi dan mungkin juga melalui konjugasi (Stapleton dan Taylor, 2007).

Usaha untuk mensintesis turunan penisilin yang resisten terhadap hidrolisis β -laktamase pun dilakukan. Akhirnya ditemukan *methicillin* yang memiliki gugus fenol yang disubstitusi dengan gugus metoksi. Namun, keberhasilan ini tidak berlangsung lama karena segera setelah *methicillin* digunakan secara klinis, ditemukan strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicillin* (MRSA). Resistensi

Staphylococcus aureus terhadap *methicillin* tidak tergantung pada produksi β -laktamase. Resistensi ini berhubungan dengan adanya gen *mecA* yang menyandi protein pengikat penisilin (*Penicillin-binding protein*, PBP 2a) yang tidak terpengaruh oleh obat-obat penisilin yang stabil terhadap penisilinase (*penicillinase-stable penicillins*) (Stapleton dan Taylor, 2007; Brooks dkk., 2010).

Pada infeksi yang disebabkan oleh MRSA, antibiotik yang banyak digunakan adalah vankomisin. Vankomisin merupakan senyawa glikopeptida unik dan tidak dapat dimasukkan dalam golongan antibiotik yang ada saat ini. Vankomisin mengubah permeabilitas membran sel dan secara selektif menghambat sintesis asam ribonukleat bakteri. Tetapi, terdapat kontroversi terhadap pemakaian antibiotik yang diandalkan dalam penatalaksanaan infeksi akibat MRSA ini. Hal ini dikarenakan adanya penurunan kepekaan *in vitro* terhadap antibiotik ini dan dihubungkan dengan kegagalan terapi karena konsentrasi hambat minimal (KHM) vankomisin telah mencapai batas atas kepekaan. Oleh karena itu, digunakan antibiotik baru dalam terapi MRSA misalnya daptomisin dan linezolid yang penggunaannya semakin meningkat. Akan tetapi, agen antibiotik ini mempunyai efikasi yang terbatas pada infeksi jenis tertentu. Selain itu, resistensi terhadap antibiotik tersebut juga telah muncul (Karchmer dan Bayer, 2008).

2.2 Pisang Muli (*Musa acuminata*)

2.2.1 Klasifikasi Ilmiah

Secara taksonomi, klasifikasi pisang muli yaitu (ITIS, 2017):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Musaceae
Genus	: <i>Musa</i> L.
Species	: <i>Musa acuminata</i>

2.2.2 Gambaran Umum

Pisang yang berasal dari genus *Musa*, famili Musaceae adalah tanaman tropis yang banyak terdapat di Asia Tenggara. Tanaman pisang berbatang lunak dan berdaun besar memanjang yang banyak. Buah pisang tersusun berkelompok dan menjari pada tandan yang disebut sisir. Hampir semua buah pisang memiliki kulit berwarna hijau ketika mentah dan kuning pada saat matang. Buah pisang mempunyai berat rata-rata 125 g yang terdiri atas 75% air dan 25% bahan padat. Bagian daging buah pisang dilapisi oleh kulit di bagian luar. Perbandingan antara kulit dan daging adalah 1,2:1,6. Baik kulit ataupun daging pisang dapat dikonsumsi mentah atau dimasak (Agoes, 2010). Bagian lain tanaman pisang juga dapat diolah menjadi produk olahan maupun

bahan industri. Di Indonesia, tanaman pisang juga digunakan oleh masyarakat pedesaan sebagai obat untuk luka luar (Ningsih dan Agustien, 2013).

Tanaman pisang kaya akan nilai gizi dan mempunyai nilai ekonomis yang tinggi sehingga tanaman ini menjadi tanaman hortikultura yang penting. Produk utama tanaman pisang adalah buahnya. Produksi pisang di Indonesia yang merupakan campuran dari berbagai jenis pisang pada tahun 2009 mencapai 6.273.060 ton atau 6 persen dari produksi dunia. Hal ini membawa Indonesia menduduki tempat keenam setelah India, Cina, Filipina, Ekuador, dan Brazil (Suhartanto dkk., 2014)

2.2.3 Kandungan Kulit Pisang

Kulit pisang mengandung metabolit sekunder yang mempunyai peran penting pada tumbuhan yaitu sebagai perlindungan terhadap predator dan mikroba patogen, pertahanan terhadap stres abiotik (misalnya paparan UV-B), dan komunikasi tanaman dengan organisme lainnya. Fungsi pertahanan metabolit sekunder terhadap predator dan bakteri patogen dikarenakan sifat toksik yang dimilikinya (Mazid dkk., 2011). Metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit pisang yang berperan sebagai antibakteri yaitu flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid (Normayunita dkk., 2015).

Flavonoid adalah polifenol terbanyak yang terdapat pada tumbuhan yang dikonsumsi manusia. Biosintesis flavonoid distimulasi oleh sinar matahari, sehingga konsentrasi flavonoid yang lebih tinggi berada pada lapisan terluar dari buah atau sayuran misalnya pada bagian kulit. Flavonoid terbagi dalam 6 kelompok yaitu flavon, flavonol, isoflavon, antosianin, flavanon, dan flavonol. Ekstraksi polifenol dapat dilakukan menggunakan pelarut air, methanol, asam format dan lain-lain (Karaca, 2011). Namun penelitian Pambayun dkk (2007) membuktikan bahwa ekstraksi dengan pelarut etil asetat dapat menghasilkan kandungan fenolat total dan sifat antibakteri yang lebih tinggi. Flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya komponen intraseluler (Ngajow dkk., 2013). Flavonoid dapat mengganggu fungsi membran sitoplasma dengan menghambat DNA gyrase dan aktivitas *β -hydroxyacyl-acyl carrier protein dehydratase* (Paiva dkk., 2010). Selain itu, senyawa ini juga mendenaturasi protease pada sel bakteri (Ngajow dkk., 2013).

Tanin yang terkandung pada kulit pisang dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Aktivitas antibakteri tanin juga berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba dan mengganggu transportasi protein pada lapisan dalam sel. Selain itu,

tanin juga mengganggu pembentukan dinding sel yang mengakibatkan lisisnya sel bakteri (Ngajow dkk., 2013).

Senyawa saponin memiliki sifat antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri karena saponin memiliki komponen aktif *aglycone* yang bersifat membranolitik (Zahro dan Agustini, 2013). Aktivitas antibakteri senyawa alkaloid berhubungan dengan tingginya senyawa aromatik kuartener dari alkaloid yang berkontribusi untuk membentuk interkhelat dengan DNA bakteri (Ningsih dan Agustien, 2013).

Senyawa terpenoid diketahui memiliki sifat antibakteri tetapi mekanismenya masih belum benar-benar diketahui. Aktivitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik. Selain itu, menurut De Leon dkk (2010) terpenoid memiliki target utama membran sitoplasma mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik.

2.2.4 Metode Ekstraksi Kulit Pisang muli (*Musa acuminata*)

Ekstraksi adalah pemisahan bahan aktif dari bagian tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut tertentu pada proses ekstraksi standar. Hasil yang didapatkan dari tumbuhan adalah cairan yang relatif tidak murni, semi padat atau serbuk yang biasanya digunakan hanya untuk penggunaan oral atau luar (Handa, 2008). Pada prinsipnya,

ekstraksi suatu bahan dipengaruhi oleh suhu. Semakin tinggi suhu yang digunakan, semakin tinggi ekstrak yang diperoleh. Namun demikian, bahan hasil ekstraksi dengan berbagai tingkat suhu belum tentu memberikan pengaruh yang berbeda terhadap sifat antibakterinya (Pambayun dkk., 2007).

Terdapat tiga metode konvensional yang dapat digunakan untuk mendapatkan bahan aktif dari tumbuhan yaitu ekstraksi soxhlet, maserasi, dan hidrodistilasi (Azmir dkk., 2013). Untuk menghasilkan ekstrak kasar, metode soxhlet memberikan hasil ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan cara ekstraksi lainnya (Pambayun dkk., 2007).

Ekstraktor soxhlet awalnya digunakan untuk ekstraksi lemak tetapi saat ini penggunaannya sudah lebih luas. Ekstraksi soxhlet banyak digunakan untuk mendapatkan bahan aktif yang terdapat pada berbagai sumber alami. Secara umum, sampel dibungkus kemudian dimasukkan ke dalam labu distilasi yang mengandung pelarut tertentu. Setelah mencapai batas, larutan akan meluap kemudian di aspirasi oleh pipa. Pipa kemudian mengalirkan larutan kembali ke labu distilasi. Zat terlarut tetap berada di labu distilasi dan pelarut kembali melewati sampel yang dibungkus. Proses ini terjadi berulang sampai ekstraksi selesai dimana pelarut menjadi jernih (Azmir dkk., 2013). Larutan yang diperoleh selanjutnya dirotaevaporasi dengan tekanan dan suhu sesuai pelarut sampai diperoleh ekstrak kental (Pambayun dkk., 2007).

Keuntungan penggunaan metode soxhlet dibandingkan metode lainnya yaitu bahan dalam jumlah besar dapat diekstrak dengan menggunakan pelarut yang lebih sedikit (Handa, 2008).

2.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Berbagai metode laboratorium dapat digunakan untuk mengevaluasi atau menilai aktivitas antimikroba suatu ekstrak atau bahan murni. Metode utama pada uji aktivitas antimikroba adalah metode difusi dan dilusi (Brooks dkk., 2010). Metode difusi yang banyak digunakan diantaranya metode difusi cakram, metode gradient antimikroba (*Etest*), dan metode sumuran. Sedangkan, pada metode dilusi yang sering digunakan yaitu metode dilusi broth dan metode dilusi agar (Balouiri dkk., 2016).

Metode difusi cakram sering digunakan laboratorium mikrobiologi klinis untuk uji kepekaan antimikroba. Pada prosedur ini, cawan agar diinokulasi dengan inokulum standar pada uji mikroorganisme. Kemudian bahan uji ditambahkan pada cakram kertas saring dengan diameter sekitar 6 mm. Cakram diletakkan diatas permukaan agar kemudian diinkubasi pada kondisi sesuai standar. Agen antimikroba menyebar pada agar dan menghambat pembentukan dan pertumbuhan mikroorganisme yang diuji kemudian diameter zona hambat diukur (Soleha, 2015). Difusi cakram didasarkan pada penentuan zona hambat yang ditandai dengan zona jernih disekitar cakram. Besarnya zona hambat sebanding dengan daya hambat antibakteri pada cakram. Diameter zona hambat berbanding terbalik dengan konsentrasi

hambat minimal, sehingga semakin besar zona hambat maka semakin rendah konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Namun, hal ini tergantung pada konsentrasi dan kemampuan berdifusi antibakteri yang terdapat dalam cakram (OIE, 2012).

Metode gradien menggunakan prinsip pembentukan tingkatan konsentrasi antibakteri dalam medium agar sebagai alat untuk menentukan kerentanan bakteri. *Etest* adalah versi komersial yang tersedia di Amerika Serikat. Alat ini menggunakan strip plastik tipis pada uji yang pada bagian bawahnya terdapat antibakteri kering dengan gradient konsentrasi. Setelah inkubasi dalam 24 jam, hasil uji dibaca dengan melihat bagian strip yang berpotongan dengan zona hambat antibakteri. Walaupun sederhana, uji aktivitas antimikroba dengan metode ini cukup mahal bila digunakan untuk menguji banyak antimikroba (Jorgensen dan Ferraro, 2009)

Metode difusi sumuran dilakukan dengan membuat lubang secara aseptik pada media agar dengan diameter kurang lebih 5 mm. Sebanyak 20-100 μ l agen antibakteri atau larutan ekstrak kemudian dimasukkan kedalam sumuran sehingga dapat menyebar secara difusi. Hasil uji ditentukan dengan mengukur diameter zona jernih disekitar sumuran. Media yang digunakan adalah agar *Muller Hinton* setebal 3-4 mm yang telah ditambahkan inokulum bakteri. Metode ini telah digunakan secara luas untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri tumbuhan atau ekstrak mikroba (Yadav dkk., 2015).

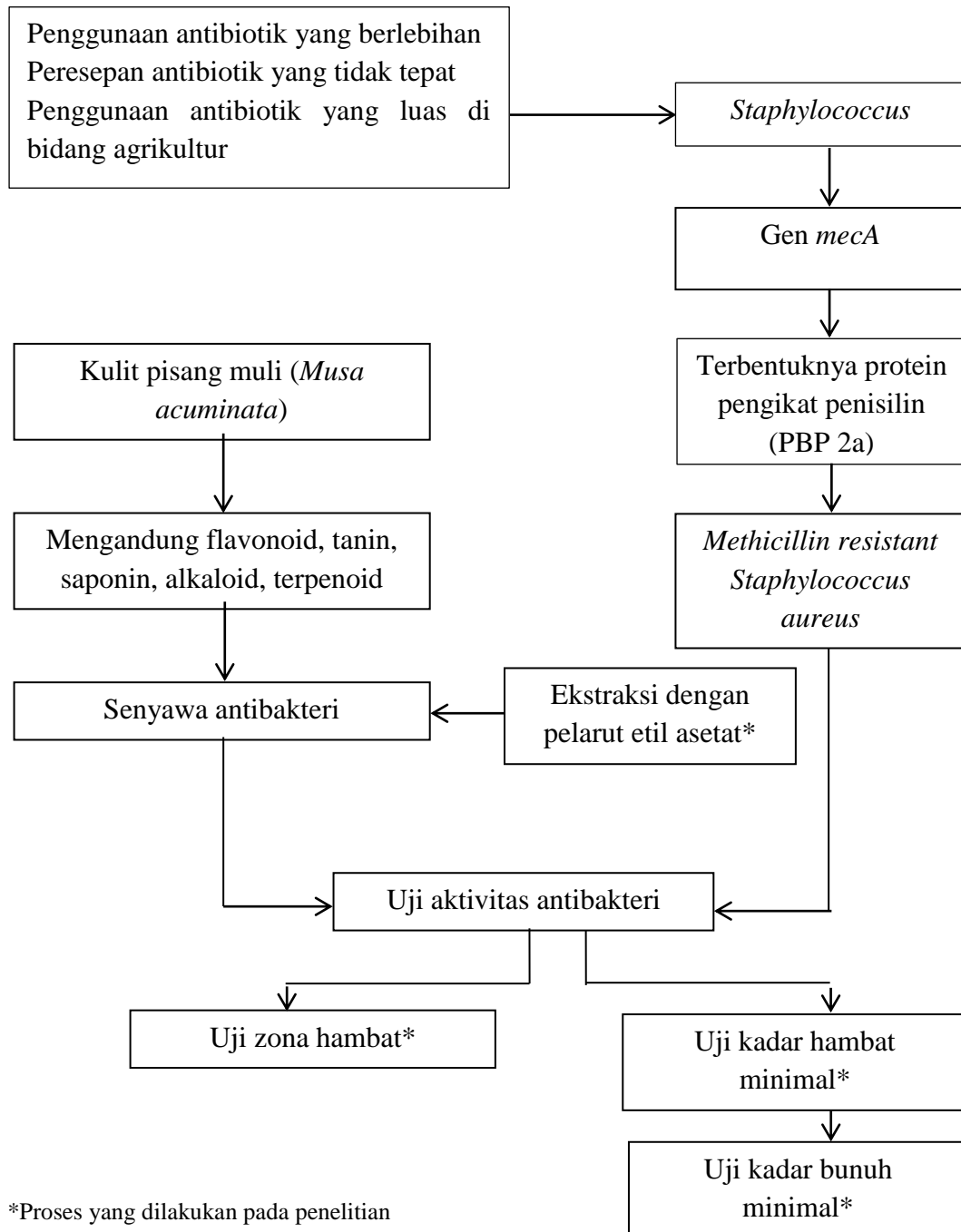
Metode dilusi adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengukur kadar hambat minimal (KHM). KHM merupakan salah satu pengukuran aktivitas antibakteri secara kuantitatif. KHM ditentukan dari konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada media broth. Metode dilusi broth terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi (Jorgensen dan Ferraro, 2009).

Pada metode makrodilusi, volume yang digunakan sebanyak 1 ml yang ditempatkan pada tabung. Sedangkan, pada mikrodilusi volume yang digunakan 0,05 ml sampai 0,1 ml yang diletakkan dalam nampan mikrodilusi. Konsentrasi antibakteri yang diuji biasanya merupakan kelipatan dua misalnya 1, 2, 4, 8, 16, dan 32 $\mu\text{g/ml}$. Masing-masing tabung atau sumuran kemudian diinokulasi dengan inokulum mikroba standar yaitu 0,5 McFarland. Setelah tercampur dengan rata, tabung atau sumuran diinkubasi pada suhu dan waktu sesuai bakteri uji. Baik makrodilusi maupun mikrodilusi mempunyai kekurangan dan kelebihan masing-masing. Kekurangan metode makrodilusi yaitu tidak menarik, pengerjaan manual, risiko kesalahan pada persiapan larutan antimikroba untuk setiap tes, dan membutuhkan jumlah reagen dan tempat yang relatif lebih besar (Balouiri dkk., 2016). Namun pada uji dengan mikrodilusi, hasil akhirnya sangat dipengaruhi oleh proses pengerjaan yang harus dikontrol secara teliti. Secara umum metode dilusi dianggap kurang efisien karena prosesnya yang rumit, banyaknya alat dan bahan yang diperlukan, dan pengerjaannya yang memerlukan ketelitian (Soleha, 2015).

Setelah melakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi broth, selain dapat menentukan KHM, kadar bunuh minimal (KBM) juga dapat diukur dengan melakukan sub kultur sampel dari tabung atau sumuran ke cakram agar non-selektif. KBM diartikan sebagai konsentrasi terendah bahan antimikroba yang diperlukan untuk membunuh 99,9% bakteri pada inokulum setelah inkubasi selama 24 jam pada kondisi yang sesuai. Hal ini terlihat dari tidak terbentuknya lagi koloni bakteri pada agar (Balouiri dkk., 2016).

Metode dilusi agar melibatkan pencampuran bahan antimikroba dengan konsentrasi yang diinginkan dengan media agar. Biasanya digunakan dilusi bertingkat dua kali lipat pada konsentrasi bahan antibakteri yang kemudian diikuti dengan aplikasi pada permukaan agar yang telah ditambahkan inokulum bakteri. Kelebihan metode ini adalah kemampuannya untuk menguji beberapa bakteri dalam satu waktu dan potensinya untuk mengidentifikasi kadar hambat minimal (OIE, 2012).

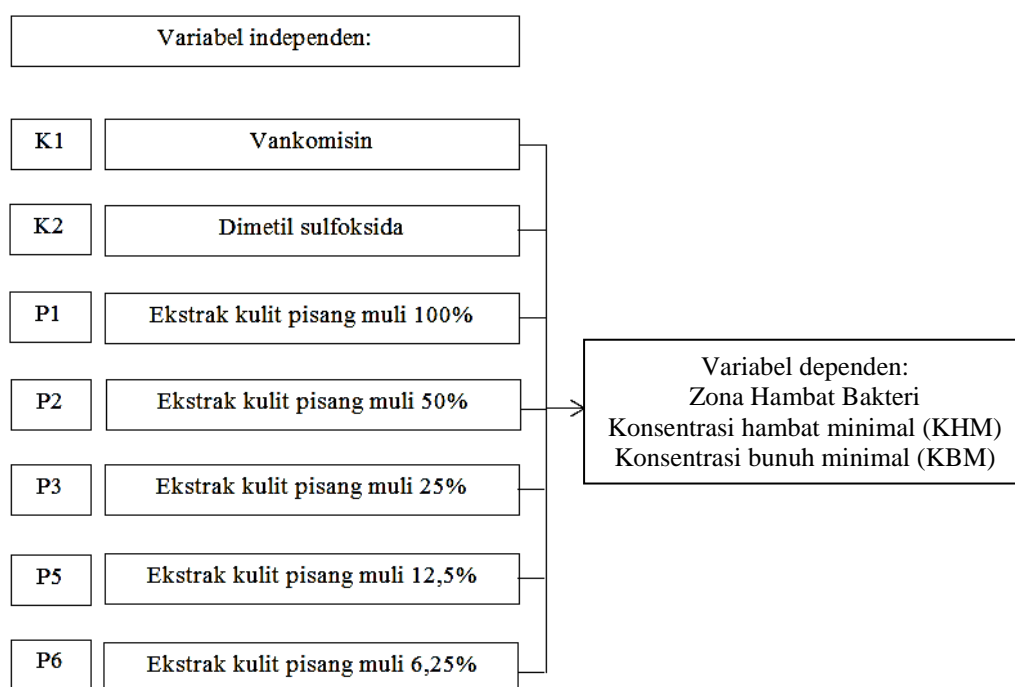
2.4 Kerangka Teori



Gambar 3. Diagram Alur Kerangka Teori.

2.5 Kerangka Konsep

Pada penelitian ini, terdapat 2 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan terdapat 5 konsentrasi yang berbeda dengan penurunan konsentrasi setengah dimulai dari konsentrasi 100% sesuai dengan penentuan konsentrasi hambat minimal (KHM) secara umum (Soleha, 2015). Konsentrasi terendah adalah 6,25% karena pada penelitian Karupiah dan Mustaffa pada tahun 2013 yang salah satunya menguji aktivitas antibakteri daun pisang muli terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus* didapatkan KHM pada konsentrasi 6,25% (Karupiah dan Mustaffa, 2013).



Gambar 4. Diagram Konsep Penelitian.

2.6 Hipotesis

Terdapat aktivitas antibakteri kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap pertumbuhan *methicillin resistant Staphylococcus aureus*.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan deskriptif eksperimental murni, dengan rancangan *post-test control group*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember tahun 2017 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Ekstraksi bahan dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah kulit buah pisang. Sampel yang digunakan yaitu kulit buah pisang muli (*Musa acuminata*).

Penelitian ini menggunakan 7 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari:

- a. Kelompok I : Ekstrak kulit pisang 100%
- b. Kelompok II : Ekstrak kulit pisang 50%

- c. Kelompok III : Ekstrak kulit pisang 25%
- d. Kelompok IV : Ekstrak kulit pisang 12,5%
- e. Kelompok V : Ekstrak kulit pisang 6,25%
- f. Kelompok VI : Vankomisin sebagai kontrol positif
- g. Kelompok VII : Dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai kontrol negatif

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan dengan rumus Frederer, yaitu:

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

Dimana: t = banyaknya kelompok perlakuan (7)

r = jumlah replikasi

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

$$(7-1) (r-1) \geq 15$$

$$6r-6 \geq 15$$

$$6r \geq 21$$

$$r \geq 3,5 \text{ (dibulatkan menjadi 4)}$$

Dengan demikian, pada penelitian ini jumlah replikasi yang dipakai adalah 4 yang artinya percobaan pada kelompok I-VII dilakukan sebanyak 4 kali percobaan (Supranto, 2007).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Independen

- a. Ekstrak kulit pisang 100%
- b. Ekstrak kulit pisang 50%

- c. Ekstrak kulit pisang 25%
- d. Ekstrak kulit pisang 12,5%
- e. Ekstrak kulit pisang 6,25%
- f. Vankomisin sebagai kontrol positif
- g. Dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai kontrol negatif

3.4.2 Variabel Dependen

Daya hambat dan daya bunuh terhadap pertumbuhan *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang dinilai dari zona hambat pada media agar, konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM).

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Definisi Operasional Penelitian.

Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
Konsentrasi ekstrak kulit pisang	Persentase berat per volum (% b/v) kulit pisang dalam pelarut DMSO	Menghitung konsentrasi ekstrak dengan rumus pengenceran $M_1V_1=M_2V_2$	Timbangan dan gelas ukur	Konsentrasi ekstrak	Ordinal
Diameter zona hambat	Diameter terpanjang daerah dimana bakteri tidak tumbuh pada cawan yang ditandai dengan adanya daerah bening disekitar sumuran.	Mengukur diameter terpanjang zona bening di sekitar sumuran	Kaliper	Millimeter (mm)	Rasio
Konsentrasi Hambat Minimal	Konsentrasi terendah ekstrak kulit pisang muli yang memiliki daya hambat terhadap MRSA	Menentukan konsentrasi terendah berdasarkan hasil uji dilusi broth yang jernih	Visual	Konsentrasi terendah ekstrak (%)	Rasio
Konsentrasi Bunuh Minimal	Konsentrasi terendah ekstrak kulit pisang muli yang memiliki daya bunuh terhadap MRSA	Menentukan konsentrasi terendah berdasarkan hasil uji dilusi agar yang tidak menunjukkan adanya koloni bakteri.	Visual	Konsentrasi terendah ekstrak (%)	Rasio

3.6 Bahan dan Alat Penelitian

3.6.1 Bahan Uji

Bahan penelitian yang digunakan adalah ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Selain itu digunakan dimetilsulfoksida untuk pengenceran dan kontrol negatif, dan vankomisin sebagai kontrol positif.

3.6.2 Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

3.6.3 Media Kultur

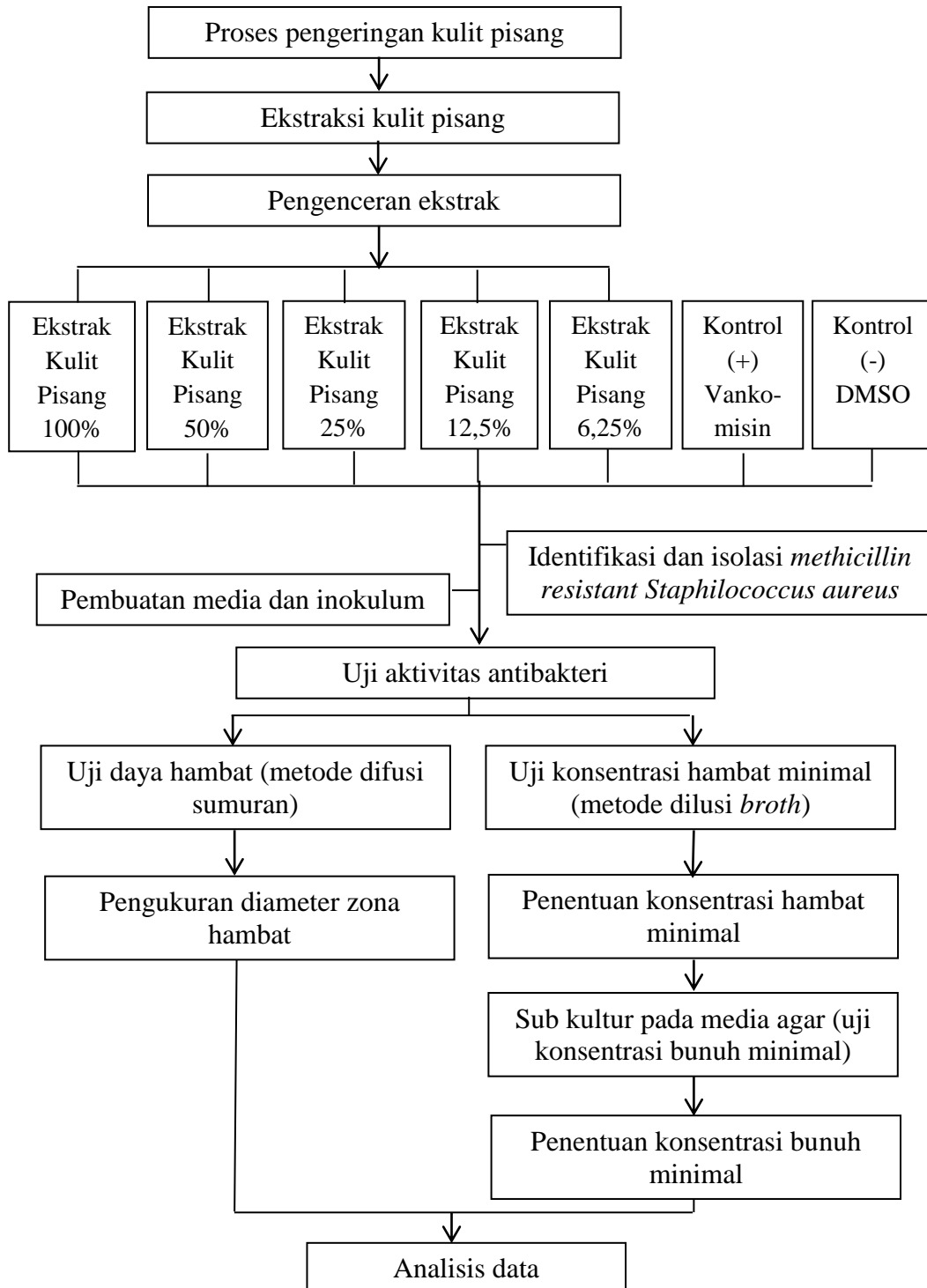
Media yang digunakan untuk mengkultur bakteri pada penelitian ini adalah agar darah domba, *Mueller Hinton* broth, dan *Mueller Hinton* agar.

3.6.4 Alat-alat yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, penggiling, ekstraktor Soxhlet, evaporator *Rotary*, kaliper, jangka sorong, gelas ukur, timbangan, *handscoon*, cakram antibiotik kosong,

cawan petri, tabung reaksi, ose, lidi kapas, lampu bunsen, *freezer*, pinset, pipet, inkubator, rak tabung reaksi, autoklaf, oven, dan *aluminium foil*.

3.7 Prosedur Penelitian



Gambar 5. Diagram Alur Prosedur Penelitian.

3.7.1 Sterilisasi Alat

Alat yang akan digunakan dalam percobaan disterilkan terlebih dahulu. Alat dicuci dan dikeringkan kemudian dibungkus longgar dengan *aluminium foil*. Setelah dipastikan alat aman untuk disterilkan dengan autoklaf dan tidak ada keretakan, alat dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 30 menit (Rutala dan Weber, 2008).

3.7.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang

- a. Kulit pisang muli segar dibersihkan dengan air, dipotong kecil, dan dikeringkan dalam suhu ruang;
- b. Kulit pisang muli yang sudah kering sebanyak 200 gram kemudian digiling sehingga menjadi bubuk;
- c. Bubuk kulit pisang kemudian diekstraksi dengan pelarut etil asetat sebanyak 2000 mL dengan menggunakan ekstraktor Soxhlet (Pambayun, 2007);
- d. Ekstrak kemudian didistilasi menggunakan evaporator *rotary*, hingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 25 ml;
- e. Dilakukan pengenceran terhadap ekstrak dengan menambahkan dimetil sulfoksida untuk mendapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% (Karuppiah dan Mustaffa, 2013).

3.7.3 Pembuatan Media

Muller Hinton Agar (MHA) ditimbang seberat 19 gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan aquades 500 ml dan dipanaskan hingga mendidih. Setelah mendidih, ditutup dengan kapas lalu dilapisi dengan *aluminium foil* dan disterilkan dalam autoklaf dengan tekanan 2 atm pada suhu 121°C selama 15 menit (Zahro dan Agustini, 2013).

Untuk pembuatan media *Mueller Hinton Broth* (MHB), 10,5 g MHB dilarutkan dalam 500 mL aquades, kemudian dipanaskan sampai larut. Selanjutnya MHB yang ada di dalam labu Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan *aluminium foil* lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Zahro dan Agustini, 2013).

3.7.4 Identifikasi dan Isolasi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli terhadap bakteri uji, dilakukan isolasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa bakteri uji benar-benar *methicillin resistant Staphylococcus aureus*. Identifikasi bakteri dilakukan dengan melakukan kultur, pewarnaan Gram, uji katalase, uji *mannitol salt agar* (MSA), dan uji kerentanan bakteri.

Kultur bakteri dilakukan dengan menanam spesimen pada cawan agar darah selama 24 jam pada suhu 35°C kemudian dilihat morfologi koloninya (Brooks dkk., 2008). Setelah itu dilakukan pewarnaan Gram untuk melihat morfologi bakteri, dengan cara (WHO, 2004):

- a. Membuat hapusan bakteri uji pada kaca objek;
- b. Menambahkan *crystal violet* pada keseluruhan kaca objek selama 60 detik. Bilas dengan air bersih;
- c. Kaca objek dibiarkan mengering sebentar, selanjutnya menambahkan iodine pada keseluruhan kaca objek selama 60 detik. Bilas dengan air bersih;
- d. Memudarkan warna dengan etanol selama 2-3 detik;
- e. Menambahkan fuksin karbol/safranin pada keseluruhan kaca objek selama 2 menit. Bilas dengan air bersih;
- f. Kaca objek ditaruh dengan posisi tegak di dalam rak kaca objek dan dibiarkan mengering;
- g. Mengamati preparat dengan menggunakan mikroskop.

Selanjutnya dilakukan uji katalase untuk mendeteksi adanya enzim sitokrom oksidase dengan meneteskan larutan hidrogen peroksida 3% ke kaca objek yang telah ditambahkan bakteri uji. Pembentukan gelembung menunjukkan hasil tes positif. Kemudian dilakukan uji *mannitol salt agar* (MSA) dengan cara mengambil koloni yang terdapat dalam media agar darah dengan ose kemudian dikultur pada media MSA. Selanjutnya bakteri pada media MSA diinkubasi pada suhu 37°C

selama 18-24 jam. Hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning (Brooks dkk., 2010).

Untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan resisten terhadap *methicillin* dilakukan uji kerentanan dengan menggunakan *cefoxitin disk diffusion test*. Cakram *cefoxitin* ditempatkan pada *Mueller Hinton agar* yang telah ditanami organisme yang akan diuji dari inokulum standar 0,5 McFarland secara merata kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam (Patel dkk., 2015).

3.7.5 Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Pisang muli (*Musa acuminata*)

Kultur bakteri dipersiapkan dengan kekeruhan 1×10^8 CFU/ml atau standar 0,5 McFarland. Bakteri kemudian dioleskan ke agar *Muller Hinton* dengan menggunakan *swab* kapas steril. Kemudian medium dibiarkan dalam suhu ruang selama 30 menit. Selanjutnya disk antibiotik yang telah direndam selama 15 menit pada ekstrak sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan, diletakkan di atas medium yang telah ditambahkan biakan bakteri. Cawan petri diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah 24 jam zona hambat diukur dengan mengukur diameter zona bening pada cawan dengan menggunakan jangka sorong (Patel dkk., 2015).

3.7.6 Uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM)

KHM diukur dengan metode makrodilusi perbenihan cair. Inokulum yang digunakan yaitu MRSA pada Mueller Hinton Broth dengan kekeruhan 1×10^8 CFU/ml atau standar 0,5 McFarland. Sebanyak 1 ml inokulum ditambahkan pada masing-masing tabung yang berisi 1 ml ekstrak kulit pisang muli dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Selain itu disiapkan juga kontrol negatif berupa DMSO dan kontrol positif berupa larutan vankomisin. Semua tabung tersebut diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam kemudian diamati dan dibandingkan dengan kontrol positif. KHM merupakan konsentrasi terendah ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada tabung yang dilihat dari pembiakan cair yang jernih secara kasat mata (Cockerill dkk., 2012).

3.7.7 Uji Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM)

KBM diukur dengan melakukan sub kultur 0,01 ml sampel bakteri pada perbenihan cair yang mempunyai konsentrasi lebih tinggi atau sama dengan nilai KHM pada permukaan agar. Agar kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan adanya koloni bakteri dianggap sebagai KBM (Barry dkk., 1999).

3.8 Analisis Data

Pada penelitian ini terdapat tujuh kelompok yaitu lima kelompok perlakuan, satu kelompok kontrol positif, dan satu kelompok kontrol negatif. Hasil penelitian diuji secara statistik dengan uji normalitas (*Shapiro-wilk*) dan homogenitas (*Levene*). Apabila data hasil penelitian menunjukkan data yang normal maka dapat diuji dengan uji parametrik *One Way ANOVA*. Sedangkan apabila tidak normal dan tidak homogen maka pengolahan data dilakukan dengan uji non-parametrik yaitu *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaaan antar kelompok.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini telah diajukan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan telah mendapatkan surat kelayakan etik dengan No. 4357/UN26.8/DL/2017 yang digunakan untuk melakukan penelitian.

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat dibuat simpulan sebagai berikut:

1. Terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus* dengan rerata diameter zona hambat antara 23,963-11,075 mm.
2. Konsentrasi hambat minimal (KHM) ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) yang mampu menghambat pertumbuhan *methicillin resistant Staphylococcus aureus* yaitu konsentrasi <6,25%.
3. Konsentrasi bunuh minimal (KBM) ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) yang mampu membunuh pertumbuhan *methicillin resistant Staphylococcus aureus* yaitu konsentrasi 50%.

5.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus* dan *methicillin sensitive Staphylococcus aureus*.

2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) dengan pelarut lain.
3. Perlu dilakukan uji coba ekstrak kulit pisang muli (*Musa acuminata*) secara *in vivo* untuk uji toksisitas.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika.

Apriasari M., Iskandar, Suhartono E. 2015. Antibacterial activity and total flavonoid of mauli banana stem. *Environment Science and Engineering*. 83(1): 153–6.

Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, dkk. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials : a review. *Journal of Food Engineering*. 117(4): 426–36.

Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2): 71–9.

Barry AL, Craig WA, Nadler H, Reller LB, Sanders CC, Swenson JM. 1999. *Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents: approved guideline*. Pennsylvania: CLSI.

Brooks GF, Carrol KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. 2010. *Mikrobiologi kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*. Edisi ke-25. Jakarta: EGC.

CDC. 2016. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [Online Article]. Tersedia dari: <https://www.cdc.gov/mrsa/tracking/index.html>.

Chen C, Huang YC. 2014. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection*. 20(7): 605–23.

Cockerill FR, Wikler MA, Alder J, Dudley MN, Eliopoulos GM, Ferraro MJ, dkk. 2012. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard*. Edisi ke-9. Pennsylvania: CLSI.

Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. 2014. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 44(1): 377–86.

De Leon L, Loopez MR, Moujir L. 2010. Antibacterial properties of zeylasterone, a triterpenoid isolated from *Maytenus blepharodes*, against *Staphylococcus aureus*. *Microbiological Research*. 165(1): 617–26.

Ehiowemwenguan G, Emoghene AO, Inetianbor JE. 2014. Antibacterial and phytochemical analysis of banana fruit peel. *IOSR Journal Of Pharmacy*. 4(8):18–25.

Green BN, Johnson CD, Egan TJ, Rosenthal CDR, Griffith EA, Evans MW. 2012. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: an overview for manual therapists. *Journal of Chiropractic Medicine*. 11(1): 64–76.

Handa, SS. 2008. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. Trieste: ICS-UNIDO.

ITIS, 2017. *Musa acuminata colla*. Integrated Taxonomic Information System [Online Database]. Tersedia dari: <http://www.itis.gov>.

Jorgensen JH, Ferraro MJ. 2009. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*. 49(1): 1749–1755.

Karaca, CH. 2011. Evaluation of natul antimicrobial phenolic compounds against foodborne pathogens [thesis]. Kentucky: University of Kentucky.

Karchmer AW, Bayer AS. 2008. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: an evolving clinical challenge. *Clin Infect Dis*. 46(Suppl 5): 342–3.

Karuppiah P, Mustaffa M. 2013. Antibacterial and antioxidant activities of *Musa* sp. leaf extracts against multidrug resistant clinical pathogens causing nosocomial infection. *Asian Pac J Trop Biomed*. 3(9): 737–42.

Madan J, Singh R. 2010. Formulation and evaluation of aloe vera topical gels. *International journal of pharmaceutical sciences*. 2(2): 515–51.

Mahmudah R, Soleha TU, Ekowati C. 2013. Identifikasi methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pada tenaga medis dan paramedis di ruang intensive care unit (ICU) dan ruang perawatan bedah rumah sakit umum daerah Abdul Moeloek. 2(4):70–8.

Mazid M, Khan TA, Mohammad F. 2011. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*. 3(2): 232–49.

Mendes RE, Mendoza M, Singh KKB, Castanheira M, Bell JM, Turnidge JD, dkk. 2013. Regional resistance surveillance program results for 12 Asia-Pacific nations (2011). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 57(11): 5721–6.

Mokbel M dan Hashinaga F. 2005. Antibacterial and Antioxidant Activities of Banana (*Musa* , AAA cv . Cavendish) Fruits Peel. *Am J Biochem & Biotechnol*. 1(3): 125–31.

Mulyatni A, Budiani A, Taniwiryono D. 2012. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L .) terhadap *Escherichia coli* , *Bacillus subtilis* , dan *Staphylococcus aureus* . *Menara Perkebunan*. 80(2): 77–84.

Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. 2013. Pengaruh Antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT*. 2(9): 128–32.

Ningsih AP, Agustien A. 2013. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kental tanaman pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* . *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2(9): 207–13.

Normayunita S, Anam S, Khumaidi A. 2015. Aktivitas antibakteri fraksi ekstrak kulit buah mentah pisang ambon (*Musa paradisiaca* var . sapientum) terhadap *Staphylococcus aureus* . *Online Journal of Natural Science*. 4(3): 300–9.

OIE. 2012. Laboratory methodologies for bacterial antimicrobial susceptibility testing. *OIE Terrestrial Manual*. 2(1): 1–11.

Paiva P, Gomes F, Napoleão T. 2010. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. *Formatex*. 1(1): 396–406.

Pambayun R, Gardjito M, Sudarmadji S, Kuswanto KR. 2007. Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir Roxb*). *Majalah Farmasi Indonesia*. 18(3): 141–6.

Patel JB, Cockerill FR, Bradford PA, Eliopoulos GM, Hindler JA, Jenkins SG, dkk. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI. 35(3):1–372.

Putri W, Warditiani N, Larasanty L. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(4): 56–60.

Rutala WA, Weber DJ. 2008. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. Centre for Disease Control and Protection. 2(1): 1–158.

Soleha, TU. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Juke Unila*. 5(9): 3–7.

Stapleton PD, Taylor PW. 2007. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanism and modulation. Europe PMC Funders Group. 85(1): 1–14.

Suhartanto R, Sobir, Harti H. 2014. Buku ajar teknologi sehat budidaya pisang. Edisi ke-1. Bogor: Pusat Kajian Hortikultura Tropika IPB.

Supranto J. 2007. Teknik sampling untuk survey dan eksperimen. Jakarta: Rineka Cipta.

Ventola CL. 2015. The antibiotic resistance crisis part 1: causes and threats. *P & T*. 40(4): 277–83.

Warsa UC. 2010. Kokus positif gram. Dalam: Staff pengajar bagain mikrobiologi FKUI, penyunting. Buku ajar mikrobiologi kedokteran. Edisi revisi. Jakarta: Binarupa aksara. hlm. 125–150.

WHO, 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: WHO Library Cataloguing Data.

WHO, 2004. Pedoman teknik dasar untuk laboratorium kesehatan. Edisi ke-2. Jakarta: EGC.

Wiley J, Chao S, Young G, Oberg C, Nakaoka K. 2008. Inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by essential oils. Flavour Fragr J. 23(1): 444–9.

Yadav S, Trivedi NA, Bhatt JD. 2015. Antimicrobial activity of fresh garlic juice: an in vitro study. An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda. 36(2): 203–7.

Zahro L, Agustini R. 2013. Uji efektivitas antibakteri ekstrak saponin jamur tiram putih terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. UNESA Journal of Chemistry. 2(3): 2–7.