

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

(skripsi)

**HERMAN FRANSISKUS SINAGA
1818011090**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**Oleh
HERMAN FRANSISKUS SINAGA**

**Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

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



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul : **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
KULIT NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN
*Escherichia coli***


Nama Mahasiswa : **Herman Fransiskus Sinaga**


No. Pokok Mahasiswa : **1818011090**

Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**




Dr. dr. Ety Apriliana, S. Ked., M. Biomed.
NIP. 197804292002122002


Linda Septiani, S. Si., M. Sc.
NIP. 199009282022032010

MENGETAHUI
Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Evi Kurniawati, S. Ked., M. Sc.
NIP. 197601202003122001

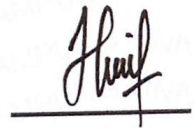
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

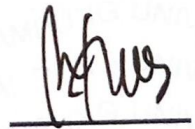
Ketua : **Dr. dr. Ety Apriliana, S. Ked., M. Biomed.**




Sekretaris : **Linda Septiani, S. Si., M. Sc.**



Penguji Bukan Pembimbing : **dr. Intanri Kurniati, S. Ked., Sp. PK.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawati, S. Ked., M. Sc
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 23 Januari 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul “ **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***” adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam akademik atau yang dimaksud dengan plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

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

Bandar Lampung, Februari 2025
Pembuat Pernyataan



Herman Fransiskus Sinaga

RIWAYAT HIDUP

Herman Fransiskus sinaga lahir di Tarutung, Kabupaten Tapanuli Utara, Sumatera Utara, pada tanggal 9 Maret 2000. Penulis merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Hasoloan Sinaga dan Ibu Florida Siregar . Penulis memiliki kakak perempuan bernama Berliana Margareta Sinaga dan kakak laki-laki bernama Pangeran Paulus Sinaga. Penulis menempuh pendidikan formal di SD Swasta Santa Maria Tarutung pada tahun 2005 dan lulus pada tahun 2011. Penulis melanjutkan pendidikan pada tahun yang sama di SMP Swasta Santa Maria Tarutung dan lulus pada tahun 2014. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Tarutung pada tahun 2014 dan lulus pada tahun 2017. Penulis menempuh pendidikan tinggi di Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung, setelah diterima melalui tes Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2018.

Selama menjalani masa perkuliahan, penulis mengikuti beberapa organisasi baik dalam maupun luar Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Penulis aktif menjadi anggota Lembaga Kemahasiswaan PMPATD Pakis *Rescue Team* sejak tahun 2019 hingga seterusnya. Dalam organisasi yang sama, penulis dipercayakan sebagai Kepala Divisi Pengabdian Masyarakat dengan masa jabatan sejak tahun 2020 hingga 2021. Setelahnya, penulis kemudian diangkat menjadi Dewan Pembina Organisasi. Sedangkan untuk organisasi luar fakultas, penulis menjadi anggota Unit Kegiatan Mahasiswa Katolik Universitas Lampung sejak tahun 2018 dan kemudian dipercayakan sebagai Koordinator Fakultas Kedokteran UKMK pada tahun 2019. Penulis juga terlibat aktif dalam kepanitiaan beberapa acara dalam cakupan fakultas dan universitas. Penulis menjadi anggota kepanitiaan Keamanan dan Bantuan Medis pada Diesnat Fakultas Kedokteran di tahun 2019. Penulis juga menjadi anggota Tim Bantuan Medis Universitas Lampung untuk kegiatan UTBK yang diselenggarakan di tahun 2021 dan 2022.

SANWACANA

Puji Syukur penulis sampaikan kehadiran Tuhan yang Maha Esa, Allah Tritunggal Maha Kudus, atas kasih dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, dorongan, kritik dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawati, S. Ked., M. Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Intanri Kurniati, S. Ked., Sp. PK., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sekaligus Pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan saran sehingga skripsi ini dapat dibuat sebaik mungkin
4. Dr. dr. Ety Apriliana, S. Ked., M. Biomed., selaku Pembimbing Pertama yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing dan memberikan masukan sehingga skripsi ini dapat dibuat sebaik mungkin;
5. Ibu Linda Septiani, S. Si., M. Sc., selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing dan memberikan masukan sehingga skripsi ini dapat dibuat sebaik mungkin;

6. Ibu Selvi Marcellia, S. Si., M. Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan saran dan nasihat, baik urusan akademik maupun non-akademik selama perkuliahan di Fakultas Kedokteran.
7. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas segala ilmu, yang telah membantu dalam membimbing dan memberikan pengalaman selama penelitian yang sangat berharga
8. Kepala dan staf Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung, Dr. dr. Tri Umiana Soleha, S. Ked., M. Kes., Ibu Eka Fitriyani, A. Md., F., dan Ibu Romiani, A. Md., atas izin dan bimbingannya selama saya melaksanakan penelitian di laboratorium
9. Seluruh staf Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, terkhususnya Ibu Dhiny Suntya, S. P., M. Si., atas izin dan bimbingannya selama saya melaksanakan penelitian di laboratorium biologi
10. Bapak Hasoloan Sinaga dan Ibu Florida Siregar, selaku kedua orang tua, serta Kakak Berliana Margaretta Sinaga dan Abang Pangeran Paulus Sinaga, selaku saudara dan saudari saya, yang sudah memberikan dukungan, nasihat, dan perhatian yang menjadi motivasi terbesar bagi saya dalam menyelesaikan penelitian ini
11. dr. Jenny Maria Carolina Siagian, S. Ked., Sp.KJ., yang telah memberikan terapi, nasihat, dan dukungan selama masa sulit penulis menjalani proses penelitian
12. Teman-teman Fibrinogen, angkatan 2018, atas setiap suka duka yang telah dilalui bersama selama proses perkuliahan pre-klinik.
13. Sahabat-sahabat saya dalam persekutuan *Pantheism*; Aquila, Christ, Edgar, Michael, Panca, Pius, teristimewa saudara saya, Ezra, Clinton, dan Ephraim yang senantiasa memberikan dukungan, perhatian dan menjadi tempat mengadu di masa-masa sulit saya selama penelitian. Kiranya kelak kita bersama menjadi sosok yang besar dan membanggakan.
14. Teman serta sahabat seperjuangan saya saat penelitian ini berlangsung, Agnesia, Pandu, Nana, Anya, Citra, Jessput, Yan, Alfina, Farah dan lainnya, teristimewa untuk saudara saya, Hamdi dan Ghoni, yang selalu

hadir memberikan dukungan, bantuan, dan perhatian besar selama perjuangan kami bersama dalam menjalani penelitian.

15. Teman, kakak, dan adik-adik dari organisasi PMPATD Pakis *Rescue Team*, teristimewa angkatan SC13, UKM Katolik Universitas Lampung, dan Permako Medis FK Unila yang telah menjadi penyemangat penulis dalam menyelesaikan penelitian ini
16. Teman, adik-adik penulis, serta *Bude* dan tante di Kos Pondok Indah, yang senantiasa menjadi pemberi semangat dan pengingat bagi penulis dalam menyelesaikan penelitian ini
17. Arlo dan Pablo, kedua sosok yang menjadi penyerta penulis dalam melalui keputusasaan selama penelitian
18. Serta semua orang telah berpartisipasi dalam keberlangsungan penelitian ini

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Penulis berharap kiranya skripsi ini akan memberikan manfaat bagi orang banyak dan dapat memberikan pengetahuan dan informasi tambahan bagi pembaca.

Bandar Lampung, Februari 2025

Penulis



Herman Fransiskus Sinaga

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF PINEAPPLE (*Ananas comosus* (L.) Merr.) PEEL EXTRACT ON *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*

By

HERMAN FRANSISKUS SINAGA

Background: Antibiotic resistance is still be a significant problem both globally and nationally. Pineapple peels which are often discarded as waste presents an alternative approach for reducing antibiotic resistance. Compounds found in pineapple peels demonstrate antibacterial properties that can be effective against Gram-positive and Gram-negative bacteria. This study aims to examine the antibacterial activity of pineapple peel extract (*Ananas comosus* (L.) Merr.) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Method : Experimental study that evaluates the antibacterial activity of methanol maceration of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) peel's extract at 75%, 50%, 25%, 12.5%, and 6.25% concentrations for inhibiting *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* growth using the well-diffusion method.

Results : The study's results demonstrated the antibacterial activities of pineapple peel extract (*Ananas comosus* (L.) Merr.) at 75%, 50%, 25%, 12.5%, and 6.25% concentrations have inhibition zones at 17.53 mm, 16.22 mm, 12.57 mm, 12.50 mm, and 9.52 mm against *Staphylococcus aureus*, and 14.00 mm, 13.46 mm, 6.70 mm, 6.50 mm, and 6.40 mm against *Escherichia coli*.

Conclusion : Pineapple peel extract (*Ananas comosus* (L.) Merr.) shows antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keyword : antibacterial, *Escherichia coli*, pineapple peel, *Staphylococcus aureus*,

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Oleh

HERMAN FRANSISKUS SINAGA

Latar belakang: Peningkatan kejadian resistensi antibiotik menjadi salah satu masalah yang terjadi secara global dan nasional. Kulit nanas yang kerap menjadi limbah digunakan sebagai alternatif dalam mengurangi tingkat resistensi akibat antibiotik. Kandungan senyawa dalam kulit nanas memiliki potensi antibakteri yang dapat digunakan melawan bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Metode : Penelitian eksperimental yang menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) yang diekstrak dengan metode maserasi pada konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi sumuran.

Hasil : Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) pada konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% memiliki rerata zona hambat secara berurutan sebesar 17,53 mm, 16,22 mm, 12,57 mm, 12,50 mm, 9,52 mm pada *Staphylococcus aureus* dan sebesar 14,00 mm, 13,46 mm, 6,70 mm, 6,50 mm , 6,40 mm pada *Escherichia coli*

Simpulan : Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata kunci : antibakteri, *Escherichia coli*, kulit nanas, *Staphylococcus aureus*,

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
BAB I _PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan Khusus.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1. Bagi Peneliti.....	6
1.4.2. Bagi Tenaga Kesehatan.....	6
1.4.3. Bagi Masyarakat.....	6
BAB II _TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Penyakit Infeksi yang Disebabkan Bakteri.....	7
2.1.1. Epidemiologi.....	8
2.1.2. Patogenitas Bakteri.....	9
2.1.3. Pengobatan Infeksi Bakteri.....	11
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.2.1. Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.2.2. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.3. <i>Escherichia coli</i>	14
2.3.1. Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	14
2.3.2. Morfologi <i>Escherichia coli</i>	14
2.4. Tanaman Nanas (<i>Ananas comosus</i> L.).....	15
2.4.1. Deskripsi Nanas.....	15

2.4.2. Fitokimia Nanas.....	16
2.5. Ekstrak Kulit Nanas terhadap Pertumbuhan Bakteri.....	19
2.6. Uji Antibakteri.....	21
2.7. Kerangka Teori dan Kerangka Konsep	25
2.7.1. Kerangka Teori	25
2.7.2. Kerangka Konsep	26
2.8. Hipotesis	26
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1. Desain Penelitian	27
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.3. Populasi dan Sampel.....	27
3.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	29
3.5. Kelompok Penelitian	30
3.6. Alat, Bahan Uji dan Mikroba Penelitian	31
3.6.1. Alat dan Bahan Penelitian	31
3.6.2. Mikroba Penelitian	32
3.7. Prosedur Penelitian.....	33
3.7.1. Determinasi Tanaman.....	33
3.7.2. Preparasi Simplisia dan Ekstraksi Kulit Nanas	33
3.7.3. Uji fitokimia Ekstrak Kulit Nanas	34
3.7.4. Pengenceran Ekstrak dan Pembuatan Larutan Kontrol	36
3.7.5. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar.....	38
3.7.6. Persiapan Suspensi Bakteri.....	38
3.7.7. Uji Aktivitas Antibakteri	39
3.8. Alur Penelitian.....	41
3.9. Rencana Pengelolaan dan Analisis Data	42
3.10. Etika Penelitian.....	43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	Error! Bookmark not defined.
4. 1. Hasil Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.1. 1. Hasil Determinasi Tanaman.....	Error! Bookmark not defined.
4.1. 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia	Error! Bookmark not defined.
	defined.

4.1. 3. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak pada <i>Staphylococcus aureus</i>	Error! Bookmark not defined.
4.1. 4. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak pada <i>Escherichia coli</i> ..	Error! Bookmark not defined.
4.1. 5. Hasil Uji Analisis Statistik	Error! Bookmark not defined.
4. 2. Pembahasan Hasil Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.2. 1. Pembahasan Hasil Uji Skrining Fitokimia	Error! Bookmark not defined.
4.2. 2. Pembahasan Hasil Uji Antibakteri Ekstrak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	Error! Bookmark not defined.
4.2. 3. Pembahasan Hasil Uji Antibakteri Ekstrak terhadap <i>Escherichia coli</i>	Error! Bookmark not defined.
4.2. 4. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas terhadap Dua Jenis Bakteri	Error! Bookmark not defined.
4.2. 5. Pembahasan Hasil Uji Analisis Statistik	Error! Bookmark not defined.
4. 3. Keterbatasan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
BAB V _KESIMPULAN DAN SARAN	44
5. 1. Kesimpulan.....	44
5. 2. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi Nanas	16
Gambar 2. Kerangka Teori	25
Gambar 3. Kerangka Konsep.....	26
Gambar 4. Alur Penelitian.....	41
Gambar 5. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Pengulangan I	Error! Bookmark not defined.
Gambar 6. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Pengulangan II	Error! Bookmark not defined.
Gambar 7. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Pengulangan III	Error! Bookmark not defined.
Gambar 8. Grafik Zona Hambat <i>Staphylococcus aureus</i> Error! Bookmark not defined.	
Gambar 9. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli</i> Pengulangan I.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 10. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli</i> Pengulangan II.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 11. Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli</i> Pengulangan III.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 12. Grafik Zona Hambat <i>Escherichia coli</i> Error! Bookmark not defined.	
Gambar 13. Grafik Rerata Zona Hambat Kedua Bakteri Error! Bookmark not defined.	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Definisi Operasional.....	29
Tabel 2. Kelompok Penelitian	30
Tabel 3. Alat dan Bahan Penelitian	31
Tabel 4. Hasil Uji Skrining Fitokimia	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak pada <i>Staphylococcus aureus</i> .	Error! Bookmark not defined.
Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak pada <i>Escherichia coli</i>	Error! Bookmark not defined.
Tabel 7. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas kelompok <i>Staphylococcus aureus</i>	Error! Bookmark not defined.
Tabel 8. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas kelompok <i>Escherichia coli</i> ...	Error! Bookmark not defined.
Tabel 9. Hasil uji <i>Kruskal-Wallis</i> kelompok <i>Staphylococcus aureus</i>	Error! Bookmark not defined.
Tabel 10. Hasil uji <i>Kruskal-Wallis</i> kelompok <i>Escherichia coli</i>	Error! Bookmark not defined.
Tabel 11. Tabel Uji <i>Post-Hoc</i> Games-Howell kelompok <i>Staphylococcus aureus</i>	Error! Bookmark not defined.
Tabel 12. Tabel Uji <i>Post-Hoc</i> Games-Howell kelompok <i>Escherichia coli</i>	Error! Bookmark not defined.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara berkembang beriklim tropis dengan kejadian penyakit infeksi yang masih tinggi. Faktor sosiodemografi seperti urbanisasi, buruknya sanitasi dan higienitas, dan perubahan iklim, faktor pengendalian penyakit serta faktor-faktor lain seperti vektor penyakit dan resistensi obat menjadi alasan mengapa penyakit infeksi sering terjadi di negara berkembang beriklim tropis (Mackey *et al.*, 2014). Prevalensi penyakit infeksi seperti diare, tuberkulosis, pneumonia, infeksi saluran pernafasan, dan penyakit infeksi lain di Indonesia memang mengalami penurunan di beberapa puluh tahun terakhir, namun hal ini masih menjadi salah satu beban penyakit negara yang cukup besar (Mboi *et al.*, 2022).

Penyakit infeksi pada negara beriklim tropis sering disebabkan oleh bakteri. Pada tubuh manusia, bakteri dapat bersifat komensal, parasit/patogen, atau bersifat keduanya. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah contoh bakteri pada tubuh manusia yang bersifat komensal namun terkadang bisa menjadi patogen saat jumlahnya sudah berlebih atau bisa disebut sebagai patogen oportunistik (Bashabsheh *et al.*, 2024; Ramos *et al.*, 2020). Bakteri *Staphylococcus aureus* diketahui menjadi penyebab beberapa penyakit infeksi, seperti bakteremia, endokarditis, pneumonia, osteomielitis, arthritis dan infeksi kulit. Secara global, terdapat sekitar 738 ribu hingga 1,48 juta kasus rawat inap pada anak yang disebabkan oleh pneumonia yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* pada tahun 2019 (Kulkarni *et al.*, 2022). Dalam dua dekade ini, infeksi *Staphylococcus aureus* mengalami peningkatan kasus, terutama pada hubungannya dengan tenaga kesehatan seperti infeksi pada

fasilitas kesehatan, penggunaan prostetik kesehatan, dan infeksi silang antar tenaga kesehatan. Kasus resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik (*Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA)) juga mengalami peningkatan setiap tahunnya (Tong *et al.*, 2015). Pada benua Asia, ditemukan sekitar 28 hingga >70% kasus penyakit infeksi yang diakibatkan *Staphylococcus aureus* merupakan jenis MRSA (Chen & Huang, 2014). Tingginya angka kejadian resistensi antibiotik yang menimbulkan morbiditas dan mortalitas dilaporkan hingga mencapai 700.000 kasus per tahun pada tahun 2014 secara nasional (Kemenkes, 2013).

Bakteri *Escherichia coli* yang secara komensal hidup di saluran intestinal manusia dapat menjadi patogen yang menyebabkan beberapa jenis penyakit infeksi, contohnya seperti gastroenteritis, infeksi saluran kemih, septicemia, peritonitis pasca-operasi, hingga meningitis (Ramos *et al.*, 2020). Pada tahun 2010, WHO mengestimasi ada sekitar 111 juta morbiditas dan 63.000 kasus mortalitas yang disebabkan oleh diare yang berasal karena infeksi *Escherichia coli* setiap tahunnya (Winstead *et al.*, 2024). Indonesia sendiri masih mengalami prevalensi diare yang cukup tinggi. Pada tahun 2023 saja, terdapat 877 ribu kasus kejadian diare dengan 87 ribu diantaranya dialami oleh balita (Kemenkes, 2023). Kasus infeksi *Escherichia coli* yang mengalami resistensi akan antibiotik ada sekitar 22,8% dari total kasus terdata di benua Asia (Salleh *et al.*, 2022).

Dalam mengatasi penyakit-penyakit infeksi, negara tropis, salah satunya Indonesia, telah lama mempraktikkan pengobatan tradisional menggunakan tanaman-tanaman obat (Widjaja dkk., 2014). Komponen tanaman yang digunakan dalam pengobatan tradisional ini tidak hanya berpatok pada satu bagian tanaman saja. Baik bagian daun, buah, batang, ranting, akar, biji, maupun kulit dapat digunakan sebagai obat (Abd El-Ghani, 2016).

Salah satu tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia dan ternyata memiliki khasiat pengobatan adalah nanas. Indonesia dikenal sebagai

salah satu negara dengan produksi nanas tertinggi di dunia. Pada periode 2021-2023, Indonesia memproduksi rerata hingga tiga juta ton nanas per tahunnya. Provinsi Lampung menjadi produsen nanas tertinggi di Indonesia dengan angka produksi mencapai sekitar 861.706 ton nanas pada tahun 2022 (BPS, 2023). Dengan angka yang sedemikian besar, produksi nanas juga sayangnya menjadi salah satu komoditas pertanian yang menghasilkan limbah produksi yang cukup besar. Produk sampingan atau limbah produksi nanas, yang terdiri dari kulit, batang, ujung mahkota, daun, dan akar bisa mencapai 60% dari berat tanaman nanas itu sendiri. Padahal, limbah seperti kulit nanas masih dapat digunakan karena memiliki banyak potensi manfaat dalam berbagai hal, seperti penggunaan dalam fitofarmaka, bio-gas, hingga kosmetik (Sarangi *et al.*, 2023). Limbah kulit nanas juga memiliki kegunaan dalam bidang kesehatan. Kulit nanas yang kaya akan metabolit sekunder seperti enzim bromelin diketahui memiliki efek terapeutik seperti antimikrobial, antikoagulan, antidiabetes, antikanker, hingga antidepresan (Dabesor *et al.*, 2017; Kafeel & Naqvi, 2016; Pendong *et al.*, 2024). Enzim bromelin yang tinggi dalam kulit nanas juga menjadi salah satu senyawa metabolit yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerja antimikroba bromelin adalah dengan mengubah atau merusak struktur dinding luar bakteri yang mengandung protein (Eshamah *et al.*, 2013). Enzim bromelin dalam nanas juga menjadi bahan bioaktif utama yang tercatat memiliki manfaat lain contohnya dalam menghambat pertumbuhan sel ganas, pembentukan trombus, peradangan, dan manfaat dalam segi dermatologis (Sánchez-Burgos & de Lourdes García-Magaña, 2017). Metabolit-metabolit sekunder pada kulit nanas seperti flavonoid, saponin, tanin, dan lainnya juga diketahui memiliki daya antibakteri yang bekerja dalam intervensi terhadap struktur membran dan sitoplasma sel (Vaou *et al.*, 2021).

Penelitian terkait kegunaan ekstrak kulit nanas dalam efek antimikrobial dan antibakteri sebelumnya sudah banyak dilakukan. Penelitian pada tahun 2021 membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit nanas madu pada

konsentrasi 25% memiliki efek antibakteri terbaik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan ekstrak kulit pepaya (Tivani & Sari, 2021) ekstrak etanol kulit nanas madu pada konsentrasi 25% memiliki efek antibakteri terbaik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan ekstrak kulit pepaya (Tivani & Sari, 2021). Cahyani dkk. pada tahun 2024 membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit nanas pada konsentrasi 100% memiliki efek antibakteri terkuat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Penelitian lain juga membuktikan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit nanas pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan substrat dan pelarut lain, seperti menggunakan pelarut berupa *n-hexane*, metanol, etanol, substrat nanoemulsi, hingga penggunaan substrat dalam bentuk *Eco-enzyme* (Dabesor *et al.*, 2017; Ramadhan dkk., 2024; Ramadhani dkk., 2017; Sitepu dkk. 2022).

Pelarut dengan sifat polar, seperti air, etanol, dan metanol, diketahui memiliki daya melarutkan beberapa jenis senyawa bioaktif pada ekstrak tanaman lebih baik dibanding pelarut yang memiliki sifat semi-polar dan non-polar. Beberapa studi pada beberapa jenis tanaman membuktikan pelarut metanol memiliki efisiensi daya ekstraksi yang lebih baik dibanding pelarut polar lain, seperti ethanol. Hal ini disebabkan karena, meskipun keduanya dikategorikan dalam pelarut dengan sifat polar, metanol memiliki polaritas yang lebih tinggi dibanding etanol. Hal ini memungkinkan metanol mengekstraksi senyawa metabolit sekunder bersifat polar, semi, hingga non-polar lebih banyak, terutama senyawa polar seperti senyawa fenolik, flavonoid, dan saponin (Borges *et al.*, 2020; Rahman dkk., 2018).

Oleh karena hal tersebut, peneliti tertarik melanjutkan penelitian terkait penggunaan ekstrak kulit nanas ini pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan zat pelarut metanol yang secara teori dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak sehingga memiliki potensi daya antibakteri lebih baik dibanding jenis pelarut lain. Pemilihan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada penelitian ini didasarkan oleh masih tingginya kasus infeksi yang

terjadi akibat jenis bakteri ini di masyarakat dan terkhusus pada peningkatannya pada kasus yang direlasikan pada pelayanan kesehatan. Ketersediaan dan kemudahan bakteri untuk didapatkan juga menjadi alasan mengapa peneliti menggunakan kedua jenis bakteri ini dalam penelitian ini. Selain itu, penelitian penggunaan bahan alam ini juga menjadi upaya mendukung visi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yakni sebagai Fakultas Kedokteran Sepuluh Terbaik di Indonesia pada tahun 2025 dengan kekhususan *agromedicine*.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan, dirumuskan permasalahan yang diteliti yaitu, apakah ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) mempunyai daya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk menyimpulkan hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

1. Mengetahui hasil pengukuran uji aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Mengetahui hasil pengukuran uji aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr..) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat keilmuan bagi peneliti untuk dapat mengaplikasikan pengetahuan yang diperoleh untuk mengembangkan ilmu pengetahuan terkhusus dalam bidang riset dan mikrobiologi.

1.4.2. Bagi Tenaga Kesehatan

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat bagi tenaga kesehatan dalam hal penambahan referensi dan ilmu pengetahuan dalam menindak kasus infeksi yang dapat disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan bahan alami berupa ekstrak kulit nanas

1.4.3. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat bagi masyarakat dalam menambah wawasan akan pemanfaatan kulit nanas dari segi kesehatan terkhusus dalam hal antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1.1. Penyakit Infeksi yang Disebabkan Bakteri

Penyakit infeksi adalah suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen. Infeksi ini dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, protozoa, hingga cacing (Darmadi, 2008). Salah satu penyebab penyakit infeksi yang umum adalah bakteri. Bakteri dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif. Pengklasifikasian bakteri ini didasarkan dari pewarnaan membran terluar bakteri (Adelberg *et al.*, 2008).

Tubuh manusia diestimasikan dihuni oleh berbagai jenis bakteri. Berbagai jenis bakteri yang ada pada manusia tidak semuanya bersifat parasit. Bakteri dapat bersifat komensal, parasit/patogen, atau bersifat keduanya mengacu pada lingkungan dan jumlahnya. Beberapa bakteri pada tubuh manusia yang pada jumlah tertentu bersifat komensal dapat berubah menjadi patogen saat jumlahnya sudah berlebih, hal ini disebut sebagai patogen oportunistik (Ramos *et al.*, 2020).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri umumnya dapat ditularkan dari satu individu ke individu yang lain. Namun pada beberapa kasus, dapat terjadi bakteri dari satu individu menginfeksi dirinya sendiri atau disebut *self-infection/auto-infection*. Hal ini dapat terjadi karena pada beberapa jenis bakteri, keberadaannya tidak membahayakan pada salah satu organ namun berubah menjadi patogen saat keberadaannya pada organ lain (Andrew, 2024).

Bakteri patogen oportunistik yang dapat berisiko membuat auto-infeksi contohnya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri *Staphylococcus aureus* pada tubuh manusia tidak berbahaya pada jumlah

yang relatif konstan di beberapa bagian tubuh seperti permukaan kulit dan saluran atas pernapasan. *Staphylococcus aureus* yang menginvasi jaringan internal tubuh manusia dapat menimbulkan infeksi, seperti bakteremia, endokarditis, pneumonia, osteomyelitis, dan arthritis (Bashabsheh *et al.*, 2024). Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang bersifat flora normal yang umum tinggal di saluran gastrointestinal manusia. Sifatnya tidak membahayakan manusia dalam jumlah yang seimbang. Saat *Escherichia coli* bermigrasi pada organ lain, bakteri ini dapat menimbulkan penyakit seperti infeksi saluran kemih, septisemia, peritonitis pasca-operasi, hingga meningitis (Ramos *et al.*, 2020).

1.1.1. Epidemiologi

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri seperti *Staphylococcus aureus* cenderung meningkat di setiap tahunnya. Setidaknya ada sekitar 10-30 kasus dari 100.000 orang per tahunnya. Data dari tahun 1957 hingga 1990 menunjukkan peningkatan jumlah kasus yang tadinya hanya berkisar 3 kasus per 100.000 orang menjadi 20 kasus per 100.000 orang tiap tahunnya. Data ini diperkirakan akan meningkat dikarenakan adanya kemunculan *strain* bakteri *Staphylococcus aureus* yang kebal terhadap antibiotik, bakteri ini disebut sebagai *methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) (Tong *et al.*, 2015).

Infeksi bakteri *Escherichia coli* juga masih menjadi isu kesehatan global karena masih menjadi penyebab utama terjadinya morbiditas dan mortalitas akibat diare. WHO memperkirakan ada sekitar 1,5 juta kematian akibat diare pada tahun 2015. Pada tahun 2010, WHO mengestimasi ada sekitar 111 juta morbiditas dan 63.000 kasus mortalitas yang disebabkan oleh diare yang berasal karena infeksi *Escherichia coli* setiap tahunnya (Muziburrahman dkk., 2022; Winstead *et al.*, 2024).

1.1.2. Patogenitas Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* diketahui mampu menghasilkan peptidoglikan yang merupakan bagian polimer pembentuk dinding sel bakteri, peptidoglikan berfungsi menghambat respon inflamasi dan memiliki *endotoxin-like activity*. *Staphylococcus aureus* juga memproduksi beberapa jenis enzim seperti elastase, lipase, protease, hialuronidase, dan kinase yang membuat *Staphylococcus aureus* mampu menginvasi serta merusak jaringan inang sehingga kemudian bermetastasis ke berbagai organ tubuh (Utaminingsih dkk., 2015).

Staphylococcus aureus juga memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim koagulase yang dapat membedakannya dari *Staphylococcus* jenis lainnya, seperti *Staphylococcus epidermidis*. Terdapat dua jenis produksi koagulase, yakni koagulase bebas (*free coagulase*) dan koagulase terikat (*bound coagulase*). Bakteri yang membentuk koagulase diketahui mempunyai potensi menjadi patogen yang invasif (Adelberg *et al.*, 2008; Utaminingsih dkk., 2015).

Bakteri *Escherichia coli* umumnya tidak menginfeksi tubuh manusia, namun bakteri ini dapat menjadi patogen jika jumlah bakteri dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. Beberapa jenis *Escherichia coli* yang diketahui dapat menginvasi dan bersifat patogen antara lain:

a. ETEC (*Enterotoxigenic E. coli*)

ETEC menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan terjadinya ekskresi cairan elektrolit tubuh sehingga timbul diare dengan dehidrasi. Secara immunologis enterotoksin yang dihasilkan oleh ETEC sama dengan enterotoksin yang dihasilkan oleh *V. cholera*. Enterotoksin ETEC terdiri dari dua macam yaitu Labile Toxin (LT) dan Stabile Toxin (ST)

b. EPEC (*Enteropathogenic E. coli*)

Mekanisme terjadinya diare yang disebabkan oleh EPEC belum bisa diungkapkan secara jelas, tetapi diduga EPEC ini menghasilkan cytotoxin yang merupakan penyebab terjadinya diare. Penyakit diare yang ditimbulkan biasanya selflimited tetapi dapat fatal atau berkembang menjadi diare persisten terutama pada anak-anak di bawah umur 6 bulan. Di negara berkembang, anak yang terkena infeksi EPEC biasanya yang berumur satu tahun ke atas (Leopold *et al.*, 2011).

c. EIEC (*Enteroinvasive E. coli*)

EIEC mempunyai beberapa persamaan dengan Shigella antara lain dalam hal reaksi biokimia dengan gula-gula rantai sederhana, serologi dan sifat patogenitasnya. Sebagaimana halnya dengan Shigella, EIEC membuat penetrasi mukosa usus dan bermultiplikasi pada sel-sel epitel kolon. Kerusakan yang terjadi pada epitel usus menimbulkan diare berdarah. Secara mikroskopis leukosit polimorfonuklear selalu muncul dalam feses penderita yang terinfeksi EIEC. Gejala klinik yang ditimbulkan mirip disentri yang disebabkan oleh Shigella (Radji *et al.*, 2011).

d. EHEC (*Enterohaemorrhagic E. coli*)

Patogenitas EHEC adalah dengan memproduksi sitotoksin yang bertanggung jawab terhadap terjadinya peradangan dan perdarahan yang meluas di usus besar yang menimbulkan terjadinya *haemolytic ureamic syndrome* terutama pada anak-anak. (Radji *et al.*, 2011).

e. EAEC (*Enterobio Adherent E. coli*)

Mekanisme terjadinya diare yang disebabkan oleh EAEC belum jelas diketahui, tetapi diperkirakan menghasilkan sitotoksin yang menyebabkan terjadinya diare. Beberapa strain EAEC memiliki serotipe seperti EPEC. EAEC

menyebabkan diare berair pada anak-anak dan dapat berlanjut menjadi diare persisten (Radji *et al.*, 2011).

1.1.3. Pengobatan Infeksi Bakteri

Staphylococcus aureus adalah bakteri yang sering menyebabkan berbagai infeksi, mulai dari infeksi kulit ringan hingga kondisi yang cukup serius seperti pneumonia, sepsis, dan endokarditis. Penatalaksanaan yang efektif sering kali bergantung pada jenisnya (misalnya, *Staphylococcus aureus* yang sensitif terhadap methicillin [MSSA] dan *Staphylococcus aureus* yang resistan terhadap methicillin [MRSA]) dan lokasi infeksi. Pada infeksi *Staphylococcus aureus* yang sensitif terhadap methicillin (MSSA) antibiotik lini pertama seperti, nafcillin atau oxacillin adalah pilihan untuk mengobati infeksi MSSA. Alternatif, terutama untuk infeksi kulit dan jaringan lunak dapat menggunakan cefazolin. Sementara itu, pada infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* yang resistan terhadap methicillin (MRSA) dapat menggunakan antibiotik dengan lini pertama seperti vancomycin yang umumnya digunakan untuk infeksi MRSA yang serius, dapomycin efektif untuk bakteremia dan infeksi kulit tetapi tidak untuk pneumonia, dan linezolid pilihan untuk berbagai infeksi, termasuk pneumonia dan infeksi kulit.

Untuk pengobatan dengan obat administrasi oral, klindamisin dan trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX) dapat digunakan untuk pengobatan rawat jalan infeksi kulit tanpa komplikasi. Penelitian terkini juga menyoroti kemanjuran agen yang lebih baru, seperti telavansin dan seftarolin, yang dapat efektif melawan infeksi MRSA (David & Daum, 2017; Hill *et al.*, 2007).

Selain menggunakan obat, terapi suportif seperti intervensi bedah dengan drainase abses atau pelepasan perangkat yang

terinfeksi (misalnya, kateter) mungkin diperlukan. Pembersihan dan penanganan luka yang tepat sangat penting untuk mencegah infeksi dan mempercepat penyembuhan. Pemantauan berkelanjutan untuk resistensi antibiotik penting dilakukan, karena beberapa galur MRSA telah menunjukkan resistensi terhadap agen yang umum digunakan, termasuk vankomisin. Uji kultur dan sensitivitas dapat memandu terapi antibiotik yang tepat (Hill *et al.*, 2007).

Escherichia coli adalah bakteri yang dapat menyebabkan berbagai infeksi, termasuk infeksi saluran kemih (ISK), gastroenteritis, dan infeksi aliran darah. Pendekatan pengobatan bervariasi berdasarkan jenis infeksi dan kerentanan strain terhadap antibiotik, terutama dengan munculnya strain yang resistan. Salah satu kasus infeksi *Escherichia coli* paling banyak adalah ISK. Pada pengobatan ISK, antibiotik lini pertama yang digunakan adalah nitrofurantoin, untuk ISK tanpa komplikasi. trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMX) yang mana efektif tetapi harus digunakan berdasarkan pola resistensi lokal. fosfomycin merupakan alternatif, terutama dalam kasus multiresistensi obat. Pedoman terbaru menekankan kultur dan uji sensitivitas untuk terapi, terutama dalam kasus berulang (Zhao *et al.*, 2020)

Dalam kasus lain yang disebabkan oleh *Escherichia coli* seperti gastroenteritis, untuk infeksi yang tidak parah yang disebabkan oleh *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC), perawatan suportif dengan rehidrasi seringkali cukup. Dalam kasus yang serius, antibiotik seperti azitromisin atau ciprofloksasin dapat dipertimbangkan, tetapi biasanya dihindari kecuali diperlukan karena kekhawatiran tentang resistensi (Loretz *et al.*, 2021).

Pada kasus bakteremia pengobatan lini pertama dapat menggunakan piperasilin-tazobaktam atau seftriakson untuk terapi awal. Karbapenem dapat digunakan untuk strain penghasil beta-laktamase spektrum luas (ESBL). *Escherichia coli* dikenal karena resistensi antibiotiknya yang meningkat, terutama di lingkungan rumah sakit. Pengawasan dan pengujian kerentanan sangat penting dalam memandu terapi yang tepat, agen yang lebih baru, seperti seftazidime-avibaktam dan meropenem-vaborbaktam, mungkin diperlukan untuk mengobati infeksi yang resistan (Laxminarayan *et al.*, 2013).

1.2. *Staphylococcus aureus*

1.2.1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Rosenbach, 1884 dalam buku Peacock, 2006 yaitu:

Domain : Bacteria
 Kerajaan : Eubacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus* (Mackey *et al.*, 2014).

1.2.2. Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus berasal dari kata “*Staphelē*” dalam bahasa Yunani yang berarti anggur dan kata “*aureus*” dalam bahasa latin yang berarti emas. Nama ini diberikan berdasarkan bentuk sel-sel bakteri jika dilihat di bawah mikroskop dan warna keemasan yang terbentuk saat tumbuh pada suatu media. Bakteri ini pertama kali dibiakan oleh Pasteur dan Koch, selanjutnya diteliti secara

terperinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an (Uhlemann *et al.*, 2014).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram-positif yang berbentuk bulat, mempunyai diameter 0,7-1,2 μm . Bakteri ini tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak beraturan seperti buah anggur. *S. Aureus* tidak membentuk spora dan fakultatif bersifat anaerob. Bakteri ini tidak dapat bergerak dan dapat tumbuh pada suhu 15-45°C. Bakteri ini mempunyai suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar 20-25°C. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen (Adelberg *et al.*, 2008). *Staphylococcus aureus* tumbuh pada media cair dan padat seperti NA (*Nutrien Agar*) dan BAP (*Blood Agar Plate*) dan dengan aktif melakukan metabolisme, mampu menfermentasikan karbohidrat. Pada pembenihan cair menyebabkan kekeruhan yang merata tidak membentuk pigmen (Dowshen *et al.*, 2002).

1.3. *Escherichia coli*

1.3.1. Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut

Divisi : Bacteria

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Enterobacteriales

Suku : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

1.3.2. Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4 μm (Adelberg *et al.*, 2008). Bakteri ini tidak

membentuk spora, tidak tahan asam, sebagian besar bergerak dengan flagel pentrikus (merata tersebar diseluruh permukaan sel dan beberapa strain mempunyai kapsul). *Escherichia coli* ini bersifat patogen, bakteri ini dapat menyebabkan beberapa penyakit pada manusia, antara lain: menyebabkan infeksi primer pada usus manusia (diare pada anak), infeksi pada saluran kemih. Bakteri ini banyak ditemukan dalam saluran pencernaan, dengan habitat umum berupa tanah, lingkungan akuatik, makanan, air seni dan tinja (Adelberg *et al.*, 2008).

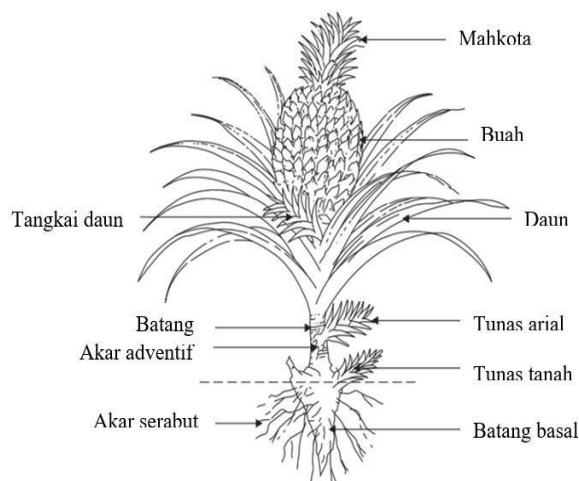
1.4. Tanaman Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

1.4.1. Deskripsi Nanas

Secara taksonomi, nanas memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Division	: Spermatophyte (tumbuhan berbiji)
Subdivision	: Angiospermae (berbiji tertutup)
Class	: Dicotyledonae
Subclass	: Magnoliales
Order	: Annonales
Family	: Annonaceae
Genus	: <i>Ananas</i>
Species	: <i>comosus</i> (Debnath <i>et al.</i> , 2023).

Nanas memiliki jenis akar serabut dengan batang yang tebal berbentuk gada dan beruas pendek (Lubis, 2020). Daun nanas berpola sejajar dengan tepi ditumbuhi duri-duri mengarah ke ujung daun. Buah nanas merupakan buah majemuk berbentuk silinder yang disebut sinkarpik. Bagian atas buah tumbuh daun-daun pendek yang tersusun seperti pilin yang disebut mahkota (Sunarjono, 2008).



Gambar 1. Morfologi Nanas (Hassan *et al.*, 2011)

Buah nanas dapat digolongkan menjadi beberapa jenis berdasarkan dari bentuk buah dan daunnya, yaitu: Cayane, Queen, Abacaxi, dan Spanish. Golongan Spanish dikembangkan di Kepulauan India Barat, Puerto Riko, Meksiko, dan Malaysia. Golongan Abacaxi banyak ditanam di Brazilia. Indonesia didominasi oleh jenis varietas Cayane dan Queen (Santoso, 2010).

1.4.2. Fitokimia Nanas

Kandungan metabolit primer dan sekunder dari tanaman nanas di setiap bagian memiliki kadar yang berbeda. Bagian batang dominan mengandung karbohidrat, asam amino protein, flavonoid, saponin, , dan alkaloid. Bagian daunnya mengandung karbohidrat, asam amino protein, asam askorbat, tanin, alkaloid, terpenoid, flavonoid, fenolik, dan enzim bromelin (Akram *et al.*, 2013; Helen *et al.*, 2019). Bagian akar mengandung banyak tanin dan saponin (Megawati, 2020). Bagian kulit mengandung enzim bromelin, flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin. Bagian buah nanas mengandung asam amino, peptida, protein, karbohidrat, lipid, fenolik, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid (Helen *et al.*, 2019; Jovanović *et al.*, 2018).

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol. Flavonoid tersusun dari struktur cincin benzene. Komponen ini sering ditemui pada tanaman-tanaman herbal. Flavonoid adalah salah satu kelompok penting dari senyawa polifenol yang tersebar pada tumbuhan. Ada sebanyak 400 flavonoid diketahui terdapat pada tanaman, beberapa diantaranya merupakan komponen pigmen pada tumbuhan. Quercetin, quercitrin dan kaempferol termasuk flavonoid yang paling banyak ditemukan, kira-kira ada sekitar 70% pada tumbuhan. Flavonoid berasal dari komponen induk yakni flavans (Saroya, 2011).

b. Enzim Bromelin

Enzim bromelin merupakan salah satu enzim proteolitik yang artinya dapat memecah gugus amino dan protein. Enzim bromelin ini menjadi salah satu senyawa metabolit yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerja antimikroba bromelin adalah dengan mengubah atau merusak struktur dinding luar bakteri yang mengandung protein. Bromelin akan memecah dan mendenaturasi protein penyusun dinding sel bakteri, akibatnya dinding sel bakteri akan melemah dan menyebabkan sel mengalami kebocoran atau pecah (Eshamah *et al.*, 2013). Dibanding bagian tanaman nanas lainnya, kulit nanas memiliki kadar bromelin yang lebih tinggi (Najib *et al.*, 2013).

c. Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti *soap* atau sabun. Saponin merupakan berat molekuler tinggi dari *glycoside*, yang berhubungan dengan triterpene atau steroid aglycone. Saponin yang terkandung pada tumbuhan memiliki sifat seperti sabun. Definisi klasik dari saponin berdasarkan dari aktivitas permukaannya, yaitu saponin banyak mengandung sifat detergen yang memiliki busa yang stabil pada air, memiliki aktivitas haemolitik. Sumber saponin yang paling banyak ditemukan pada tumbuhan. Saponin dibagi menjadi 3 kelas utama yaitu triterpene, steroid, dan alkaloid steroid (Hostettmann & Marston, 1995). Saponin diketahui menyebabkan kerusakan pada dinding sel dan mengganggu aktivitas membran sitoplasma dan protein membran, yang menyebabkan kebocoran isi sel (Dong *et al.*, 2020).

d. Fenolik

Senyawa polifenol dapat mengganggu struktur membran plasma bakteri, yang menyebabkan pembentukan pori yang menyebabkan kebocoran, perubahan muatan listrik dan polaritas sel, peningkatan permeabilitas, perubahan fluiditas, delokalisasi protein membran, dan tindakan lain yang berkontribusi pada aktivitas antibakteri (Álvarez-Martínez *et al.*, 2021).

e. Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa manfaat yaitu sebagai astringen, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks. Tanin juga memiliki peranan biologis yang kompleks, mulai dari pengendap protein, hingga pengkhelat logam (Malangngi dkk., 2012).

Tanin merupakan kelas utama dari metabolit sekunder yang tersebar luas pada tanaman. Tanin termasuk polifenol yang

dapat larut dalam air dengan berat molekuler berkisar antara 100 hingga 3000. Tanin dapat membentuk kompleks dengan protein dan mengendapkan protein, tanin juga dapat berikatan dengan molekul lain. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis, seperti *gallotannins* dan *ellagitannins*. Tanin terkondensasi, seperti proanthocyanidins yang tidak dapat terhidrolisis (Graca *et al.*, 2007).

Tanin bekerja dengan melibatkan proses seperti regulasi osmotik, kontrol pH dalam sel, sintesis dan metabolisme asam amino, glikolisis, siklus TCA, dan metabolisme zat besi. Temuan ini menunjukkan bahwa efek tanin beragam, yang berpotensi menyebabkan kerusakan pada membran sel, membatasi asam amino, mengganggu metabolisme energi, dan menarik zat besi dari metabolisme *Staphylococcus aureus* (Liu *et al.*, 2020).

1.5. Ekstrak Kulit Nanas terhadap Pertumbuhan Bakteri

Flavonoid yang terkandung dalam kulit nanas dapat menghambat proses sintesis dinding sel bakteri. Kulit nanas juga mengandung enzim bromelin yang lebih tinggi dibanding pada buah dan batang nanas. Enzim bromelin menyebabkan pemecahan ikatan peptida protein pada bakteri. Kandungan enzim bromelin dan flavonoid inilah yang dapat berpotensi memiliki daya antibakteri (Najib *et al.*, 2013).

Penelitian menggunakan ekstrak kulit nanas untuk mengetahui aktivitas antibakterinya bukan merupakan hal yang baru. Beberapa penelitian sudah membuktikan adanya daya antibakteri dari ekstrak kulit nanas. Perbedaan antar penelitian ini adalah penggunaan jenis bakteri, pelarut, dosis, dan metode penelitian.

Penelitian oleh Caesarita pada tahun 2011 membuktikan ekstrak buah nanas memiliki daya antibakteri 100% terhadap bakteri *Staphylococcus*

aureus (Caesarita dkk., 2011). Berdasarkan penelitian Angraeni dkk. pada tahun 2014 ekstrak etanol dari kulit nanas juga memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi sebesar 6,25% (Angraeni & Rahmawati, 2014).

Pada tahun 2021, sebuah penelitian membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit nanas dengan varietas nanas madu pada konsentrasi 25% memiliki daya antibakteri paling tinggi dibanding dengan ekstrak kulit buah pepaya pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Tivani & Perwita Sari, 2021). Sama halnya dengan penelitian pada tahun 2024 yang menggunakan nanoemulsi (gabungan ekstrak kulit nanas dengan fase minyak, kosurfaktan dan surfaktan) membuktikan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Ramadhan dkk., 2024). Dengan menggunakan pelarut etanol, Dabesor pada tahun 2017 juga mendapatkan hasil yang sama, yakni adanya daya aktivitas antibakteri yang kuat dari ekstrak kulit nanas dan minyak kelapa pada kedua bakteri tersebut (Dabesor *et al.*, 2017).

Penelitian pada tahun 2022 yang menggunakan kulit nanas dalam bentuk Eco-enzyme meneliti daya inhibisinya pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* and *Prapionibacterium acnes*. Kulit nanas yang dibentuk menjadi eco-enzyme memiliki daya inhibisi pertumbuhan yang terkuat pada konsentrasi 100% pada *Staphylococcus aureus* namun tidak terlalu efektif pada *Prapionibacterium acnes* (Ramadani dkk., 2022). Penelitian di tahun 2024 menggunakan limbah kulit nanas guna menguji daya aktivitas antibakteri kulit nanas pada *Escherichia coli* dan menemukan adanya daya antibakteri pada konsentrasi 100% ekstrak (Cahyani dkk., 2024)

1.6. Uji Antibakteri

Antibakteri merupakan zat atau obat untuk membasmi jasad renik yang diperoleh dari sintesis atau yang berasal dari senyawa non organik. Bakteriostatik yaitu antimikroba yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bakterisidal adalah antimikroba yang dapat membunuh mikroorganisme.

Mekanisme kerja antibakteri:

1. Menghambat sintesis dinding sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah dinding sel setelah terbentuk (Pelczar & Chan, 1988).

2. Mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel serta mengatur aliran keluar-masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen selular. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelczar & Chan, 1988).

3. Menghambat sintesis protein sel mikroba

Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasi protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) *irreversible* (tidak dapat balik) komponen-komponen selular yang vital ini (Pelczar & Chan, 1988).

4. Mengganggu metabolisme sel mikroba

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda ada yang di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu

reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Pelczar & Chan, 1988).

5. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal itu berarti bahwa gangguan apa pun yang akan terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar & Chan, 1988)

Pengujian mikrobiologi memanfaatkan mikroorganisme sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia, untuk mendiagnosis penyakit tertentu serta untuk menguji bahan kimia guna menentukan potensi mutagenik atau karsinogenik suatu bahan. Pada uji ini diukur pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Kegunaan uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien

Adapun uji antimikroba antara lain sebagai berikut:

1. Metode difusi

a. *Metode disc diffusion*

Metode disc diffusion digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi bahan antimikroba diletakan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area bening mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh bahan antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

b. *Metode E-test*

Metode E-test digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini

digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008).

c. *Ditch plate technique.*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

d. *Cup-plate technique.*

Metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang diuji (Pratiwi, 2008).

e. *Gradient-plate technique.*

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang kedalam cawan petri dan diletakan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang diatasnya dan inkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusikan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Kemudian dinilai hasil perbandingan yang didapat dari lingkungan padat dan cair, faktor difusi agen antimikroba dapat memengaruhi keseluruhan hasil pada media padat (Pratiwi, 2008).

2. Metode dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu:

a. Metode dilusi cair / *broth dilution test (serial dilution)*

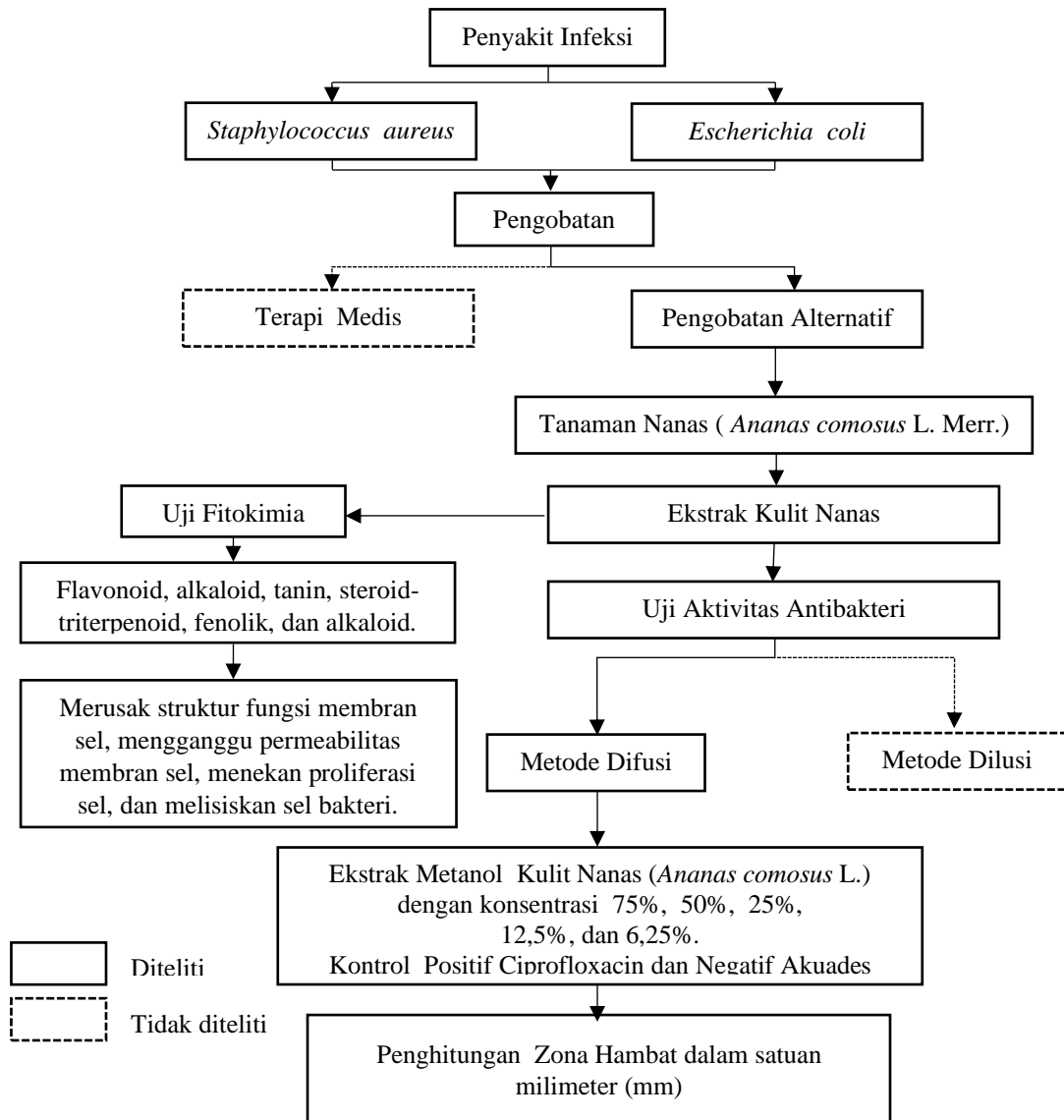
Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory concentration* atau Kadar hambat minimum (KHM) dan MBC (*Minimum Bacteridal Concentration*) atau Kadar Bunuh Minimum (KBM). Prosesnya dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

b. Metode dilusi padat / *solid dilution test*

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen mikroba yang diuji dapat digunakan untuk pengujian beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

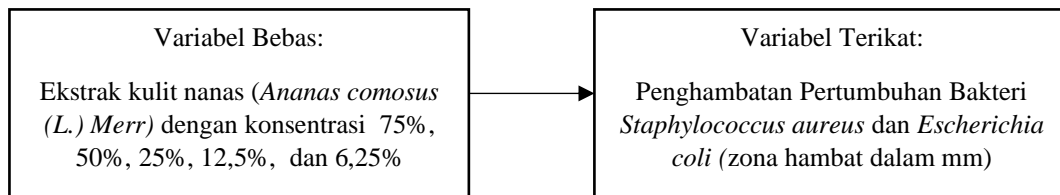
1.7. Kerangka Teori dan Kerangka Konsep

1.7.1. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori (Helen *et al.*, 2019; Jovanović *et al.*, 2018)

1.7.2. Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

1.8.Hipotesis

Ha :

1. Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

H0 :

1. Tidak terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Tidak terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah *True Experimental* dengan rancangan penelitian "*Post-test only control group design*". Dalam eksperimen murni (*true experimental*), variabel bebas dan variabel terikat diuji sebagai kelompok eksperimen dan kelompok kontrol. Subjek-subjek yang diteliti dalam kedua kelompok tersebut dipilih secara acak. Pemilihan sampel secara acak hanya dapat dilakukan jika subjek memiliki karakteristik yang serupa. Oleh karena itu, dalam pelaksanaan penelitian, karakteristik subjek-subjek tersebut disesuaikan atau dibuat seragam. Dalam desain *Post-test only control group*, subjek yang dipilih secara acak dilibatkan ke dalam dua kelompok subjek (kelompok eksperimen dan kelompok kontrol) tanpa dilakukan *pre-test*. Pada desain ini, hanya dilakukan *post-test* pada kedua kelompok, baik kelompok eksperimen maupun kelompok kontrol (Siregar & Syofian, 2014).

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Tahapan determinasi, pembuatan ekstrak dan pengujian fitokimia dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Tahapan kultur bakteri dan pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian ini dilakukan pada bulan November hingga Desember 2024.

3.3. Populasi dan Sampel

Sampel penelitian ini adalah kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) yang diperoleh dari perkebunan nanas yang berasal dari perkebunan

nanas di Kabupaten Lampung Tengah, Lampung. Pemilihan sumber pembelian buah nanas perkebunan dilakukan oleh peneliti guna menjaga kondisi, keseragaman, dan keterjaminan kualitas bahan Teknik *sampling* yang digunakan untuk pengambilan sampel adalah pengambilan secara acak (*probability sampling*).

Buah nanas secara teori menghasilkan kulit nanas sebanyak $\pm 35\%$ dari berat utuhnya. Kulit nanas yang baru dipotong dari kulitnya memiliki kadar air sebesar 82,35% yang artinya hanya akan menyisakan 17,65% berat kulit nanas dalam bentuk kering (Campos *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2020). Dengan demikian, penghitungan perkiraan buah nanas yang dibutuhkan untuk mendapatkan jumlah simplisia kering kulit nanas dapat dirumuskan sebagai berikut:

X = kulit nanas kering (gram)

Y = kulit nanas basah (gram)

Z = buah nanas utuh (gram)

$$X \text{ gram} = 17,65\% \cdot Y \text{ gram}$$

$$Y \text{ gram} = 35\% \cdot Z \text{ gram}$$

$$X \text{ gram} = (17,65\% \cdot Y)$$

$$X \text{ gram} = 17,65\% \cdot (35\% \cdot Z)$$

$$X \text{ gram} = \left(\frac{17,65}{100} \cdot \frac{35}{100} \cdot Z \right)$$

$$X \text{ gram} = 0,061775 \cdot Z$$

$$Z \text{ gram} = \frac{X \text{ gram}}{0,061775}$$

Berdasarkan perhitungan di atas, penggunaan 10 kg buah nanas utuh diperkirakan akan menghasilkan simplisia kering seberat ± 600 gram. Pada pelaksanaannya, dari total 10 kg buah nanas utuh yang peneliti siapkan, peneliti hanya berhasil mengumpulkan simplisia kering seberat 245 gram. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa hal, seperti teknik pengupasan dan proses pengeringan simplisia.

3.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.6.1. Variabel

i. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi fraksi kulit nanas 75%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.

ii. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil pengukuran zona hambat (mm) yang diukur pada media.

iii. Variabel Kontrol

Variabel kontrol yang digunakan terdiri dari dua kategori, yakni kontrol negatif yang merupakan media dengan perlakuan menggunakan akuades dan kontrol positif yang merupakan media dengan penambahan antibiotik *Ciprofloxacin*.

3.6.2. Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini dapat dilihat berdasarkan tabel berikut:

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak Metanol Kulit Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.)	Sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif kulit nanas dengan teknik maserasi menggunakan pelarut metanol dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Ekstrak ini kemudian diencerkan hingga mencapai konsentrasi tertentu.	Menggunakan metode pengenceran menggunakan rumus $V1 \times M1 = V2 \times M2$ (b/v)	Ekstrak Metanol Kulit Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%	Nominal

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	Zona bening yang terbentuk pada media yang telah diinokulasikan bakteri di sekitar sumuran yang telah dituang ekstrak, kontrol positif dan negatif (Mulyadi dkk., 2017).	Pengukuran zona hambat dihitung dalam satuan milimeter (mm) menggunakan alat bantu berupa jangka sorong.	Zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)	Rasio

3.5. Kelompok Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 14 jenis kelompok yang masing-masing dapat dilihat sebagaimana tabel di bawah:

Tabel 2. Kelompok Penelitian

Kelompok	Perlakuan	Kelompok	Perlakuan
SK-	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan akuades sebagai Kontrol Negatif (-)	EK-	Kelompok <i>Escherichia coli</i> yang diberikan akuades sebagai Kontrol Negatif (-)
S75	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 75%	E75	Kelompok <i>Escherichia coli</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 75%
S50	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 50%	E50	Kelompok <i>Escherichia coli</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 50%
S25	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 25%	E25	Kelompok <i>Escherichia coli</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 25%
S12,5	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 12,5%	E12,5	Kelompok <i>Escherichia coli</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 12,5%
S6,25	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 6,25%	E6,25	Kelompok <i>Escherichia coli</i> yang diberikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 6,25%
SK+	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan Ciprofloxacin sebagai Kontrol Positif (+)	EK+	Kelompok <i>Escherichia coli</i> yang diberikan Ciprofloxacin sebagai Kontrol Positif (+)

Berdasarkan pengelompokan ini, dalam satu kali pengulangan uji aktivitas antibakteri pada satu jenis bakteri digunakan dua buah cawan petri yang

masing-masing dibagi menjadi 4 kuadran sehingga membentuk 8 (delapan) daerah uji untuk 7 tujuh kelompok per jenis bakteri.

3.6. Alat, Bahan Uji dan Mikroba Penelitian

3.6.1. Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan selama penelitian ini dijabarkan dalam tabel di bawah berdasarkan proses tahapan yang dilakukan saat penelitian.

Tabel 3. Alat dan Bahan Penelitian

Tahapan Penelitian	Alat Penelitian	Bahan Penelitian
Preparasi Simplisia dan Ekstraksi Kulit Nanas	1. Batang pengaduk	1. Pelarut metanol 2450 mL 2. Buah nanas seberat 10 kg yang diolah menjadi kulit nenas kering seberat 245 gram
	2. Bejana maserasi dan kain atau kertas penutup	
	3. Kertas Penyaring	
	4. Oven pengering	
	5. Pisau pemotong	
	6. <i>Rotatory evaporator</i>	
	7. Timbangan analitik	
	8. Wadah penampung ekstrak	
Pengujian Fitokimia Ekstrak	1. Rak dan Tabung reaksi 2. Pipet tetes 3. Timbangan analitik 4. <i>Water bath</i>	1. Uji Flavonoid Etanol 70%, HCl, dan bubuk Magnesium (Mg)
		2. Uji Saponin Larutan HCl
		3. Uji Tanin Larutan besi (III) klorida (FeCl ₃) 10 %.
		4. Uji Fenolik Larutan besi (III) klorida (FeCl ₃) 1 %.
		5. Uji Steroid dan triterpenoid Kloroform, asam asetat glasial, dan H ₂ SO ₄
		6. Uji Alkaloid Larutan HCl Reagen Mayer Reagen Wagner Reagen Dragendroff
Persiapan Suspensi Bakteri	1. Rak dan tabung reaksi 2. Lidi kapas steril 3. Kertas latar belakang hitam	1. Biakan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>
		2. Standar 0,5 McFarland
		3. Larutan NaCl 0,9 %

Tahapan Penelitian	Alat Penelitian	Bahan Penelitian
Pembuatan Media Mueller Hinton Agar	1. Cawan petri	1. Media agar Mueller Hinton 3,8 gram 2. Akuades 100 mL 1. Suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> 2. Ekstrak metanol kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) pada konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% 3. Kontrol positif (Ciprofloxacin yang dilarutkan pada akuades) dan Kontrol negatif (akuades) 4. Media Muller Hinton Agar
	2. Gelas ukur	
	3. Labu Erlenmeyer	
	4. <i>Hot plate</i>	
	5. Batang pengaduk	
	6. <i>Aluminium foil</i>	
	7. Timbangan	
	8. <i>Autoclave</i>	
	9. <i>Plastic wrap</i> (plastik penutup)	
	10. Kapas penutup	
Uji Aktivitas Antibakteri	1. Gelas petri	1. Sterilisasi dan aseptik/antiseptik a. Alkohol 70 % b. Tempat pembuangan sampah medis
	2. Bunsen	
	3. Pipet pelubang steril	
	4. <i>Micropipette</i> dan <i>yellow tip</i>	
	5. Jangka sorong	
Tambahan lain	1. Alat Pelindung Diri (APD)	
	a. Jas laboratorium	
	b. Masker medis	
	c. Sarung tangan lateks	
	d. Sandal laboratorium	
	2. Dokumentasi dan Pencatatan	
	a. Kamera ponsel	
b. Alat tulis		
c. Kertas Label		

3.6.2. Mikroba Penelitian

Mikroba uji dalam penelitian ini adalah bakteri Gram-positif berupa *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram-negatif berupa *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan kultur bakteri yang diperoleh dalam bentuk inokulat agar miring dari Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung. Surat pernyataan terkait keterangan kultur bakteri terdapat pada Lampiran 5 dan Lampiran 6.

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Determinasi tanaman ini dilakukan untuk memastikan bahwa kebenaran bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kulit dari buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Surat pernyataan hasil determinasi tanaman terdapat di Lampiran 2.

3.7.2. Preparasi Simplisia dan Ekstraksi Kulit Nanas

Buah nanas yang digunakan dikupas hingga menyisakan kulit nanas dengan ketebalan $\pm 3-6$ mm. Kulit nanas tadi kemudian di potong menjadi potongan kecil dengan diameter ± 5 mm. Pengeringan dilakukan di luar ruangan dengan dijemur tanpa terkena sinar matahari secara langsung menggunakan kain berwarna gelap di atasnya. Pengeringan ini dilakukan selama 5x 24 jam. Kulit nanas yang sudah dalam keadaan kering kemudian dihaluskan dengan mesin *grinder*.

Simplisia kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Simplisia nanas halus seberat 245 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi, lalu ditambahkan 1837 mL pelarut metanol 80% dan ditutup rapat terhindar dari cahaya matahari langsung. Proses perendaman dilakukan selama 3 hari sambil diaduk tiap 12 jam sekali. Setelah 3 hari, campuran simplisia dan metanol diserkai sehingga diperoleh maserat pertama. Ampas kemudian direndam kembali dengan 613 mL metanol selama 1 hari, disaring kembali dan diperoleh maserat kedua. Maserat pertaman dan kedua diendapkan semalaman ssebelum kemudian dipisahkan dari residu lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental metanol kulit nanas (Kemenkes, 2017).

3.7.3. Uji fitokimia Ekstrak Kulit Nanas

Pengujian fitokimia berfungsi untuk memastikan keberadaan metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak kulit nanas yang digunakan. Pengujian fitokimia yang dilakukan berupa metabolit-metabolit sekunder berikut:

A. Flavonoid

Pengujian keberadaan metabolit flavonoid dapat menggunakan uji Willstatter. Ekstrak kulit nanas mula-mula dilarutkan ke dalam 2 mL etanol 70%. Kemudian larutan dipanaskan ± 2 menit. Setelah dipanaskan kemudian ditambahkan sebanyak 4-5 tetes HCl pekat dan 0,1 gram Magnesium (Mg) bubuk. Hasil positif keberadaan flavonoid ditunjukkan dengan munculnya warna kuning jingga hingga merah tua dalam kurun waktu 3 menit (Ergina *et al.*, 2014).

B. Saponin

Hasil positif pengujian saponin pada ekstrak kulit nanas yaitu terbentuknya busa saat dilakukan pengadukan yang kemudian ditambahkan HCl guna mempertahankan busa yang terbentuk selama 5-10 menit. Saponin yang merupakan bentuk glikosida dari saponin memiliki sifat polar. Senyawa ini menimbulkan busa saat dikocok dalam air, menunjukkan senyawa glikosida yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Padmasari *et al.*, 2013).

C. Tanin

Pengujian tanin pada ekstrak kulit nanas diindikasikan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi warna hijau ketika ekstrak ditambahkan FeCl_3 1% (Padmasari *et al.*, 2013).

D. Fenolik

Penambahan ekstrak kulit nanas sebanyak 2 mL dengan 1-2 tetes larutan besi (III) klorida (FeCl_3) 1 %. Hasil positif yang didapat saat uji fenolik ekstrak kulit nanas yaitu adanya perubahan warna menjadi biru atau ungu (Juariah *et al.*, 2018).

E. Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak kulit nanas dimasukkan ke dalam tabung reaksi, yang kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambah dengan 0,5 mL asam asetat glasial, kemudian ditambah lagi sebanyak 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Hasil positif triterpenoid ditunjukkan dengan munculnya cincin kecoklatan atau ungu/violet pada perbatasan dua pelarut, sedangkan tanda adanya steroid ditunjukkan dengan munculnya warna hijau-biru kehitaman (Juariah *et al.*, 2018).

F. Alkaloid

Pengujian alkaloid menggunakan 2 mL larutan ekstrak kulit nanas yang diuapkan diatas cawan porselin hingga didapatkan residu. Residu ini kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Larutan tersebut kemudian di bagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung I ditambahkan reagen Mayer, hasil positif bila terbentuk endapan putih pada larutan. Tabung II ditambahkan reagen Wagner, hasil positif bila larutan membentuk endapan jingga hingga coklat. Tabung III ditambahkan reagen Dragendroff, hasil positif bila larutan membentuk endapan jingga (Juariah *et al.*, 2018).

3.7.4. Pengenceran Ekstrak dan Pembuatan Larutan Kontrol

A. Pengenceran Ekstrak

Untuk memperoleh ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus:

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

Keterangan:

M1 : Molaritas sebelum pengenceran (%)

M2 : Molaritas setelah pengenceran (%)

V1 : Volume sebelum pengenceran (ml)

V2 : Volume setelah pengenceran (ml)

Perhitungan pengenceran tiap konsentrasi hingga mendapatkan masing-masing sebanyak 5 ml dapat dilihat sebagai berikut:

a. Larutan Induk/ stok awal

Larutan ekstrak kental (konsentrasi 100%) dijadikan sebagai larutan induk. Larutan ini disiapkan sebanyak 10 ml.

b. Konsentrasi 75%

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

$$100\% \cdot V1 = 75\% \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 3,75 \text{ ml}$$

Maka, untuk mendapatkan 5 ml larutan ekstrak konsentrasi 75% digunakan 3,75 ml larutan induk (konsentrasi 100%) dan ditambahkan sebanyak 1,25 ml pelarut akuades.

c. Konsentrasi 50%

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

$$100\% \cdot V1 = 50\% \cdot 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 2,50 \text{ ml}$$

Maka, untuk mendapatkan 5 ml larutan ekstrak konsentrasi 50% digunakan 2,5 ml larutan induk

(konsentrasi 100%) dan ditambahkan sebanyak 2,5 ml pelarut akuades.

d. Konsentrasi 25%

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$100\% . V1 = 25\% . 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 1,25 \text{ ml}$$

Maka, untuk mendapatkan 5 ml larutan ekstrak konsentrasi 25% digunakan 1,25 ml larutan induk (konsentrasi 100%) dan ditambahkan sebanyak 3,75 ml pelarut akuades.

e. Konsentrasi 12,5%

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$100\% . V1 = 12,5\% . 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 0,625 \text{ ml}$$

Maka, untuk mendapatkan 5 ml larutan ekstrak konsentrasi 12,5% digunakan 0,625 ml larutan induk (konsentrasi 100%) dan ditambahkan sebanyak 4,375 ml pelarut akuades.

f. Konsentrasi 6,25%

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$100\% . V1 = 6,25\% . 5 \text{ ml}$$

$$V1 = 0,313 \text{ ml}$$

Maka, untuk mendapatkan 5 ml larutan ekstrak konsentrasi 6,25% digunakan 0,313 ml larutan induk (konsentrasi 100%) dan ditambahkan sebanyak 4,688 ml pelarut akuades.

B. Pembuatan Larutan Kontrol

a. Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan adalah jenis antibiotik *broad-spectrum* dari golongan fluorokuinolon generasi kedua, yaitu Ciprofloxacin. Mula-mula ciprofloxacin dalam sediaan tablet 500 mg digerus sampai menjadi serbuk. Sebanyak 500 mg serbuk ciprofloxacin

dilarutkan ke dalam 500 ml akuades sehingga terbentuk larutan dengan konsentrasi 500 mg/ 500 ml atau sama dengan 50 µg/ 50 ml. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan melarutkan 1 ml konsentrasi 50 µg/ 50 ml ke dalam 9 ml akuades sehingga terbentuk 10 ml larutan ciprofloxacin dengan konsentrasi 5 µg/ 50 ml.

b. Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut yang digunakan dalam pengenceran ekstrak, yaitu akuades. Hal ini berfungsi untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan mengintervensi pelakuan atau tidak.

3.7.5. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar

- a. Mueller Hinton Agar dengan perbandingan 3,8 gram per 100 ml pelarut ditimbang sebanyak 11,4 gram lalu dimasukkan agar ke dalam tabung Erlenmeyer yang berisi akuades sebanyak 300 ml.
- b. Larutan kemudian dibagi ke dalam dua tabung Erlenmeyer sebanyak masing-masing 150 ml untuk kedua jenis bakteri yang hendak digunakan.
- c. Larutan kemudian dipanaskan di atas *hot plate* sembari diaduk hingga merata.
- d. Setelah itu, media agar dimasukkan ke dalam *autoclave* dengan suhu 121° C selama 15 menit untuk sterilisasi media (Sigmaaldrich, 2018).

3.7.6. Persiapan Suspensi Bakteri

Persiapan suspensi bakteri menggunakan standar 0,5 McFarland (TM50). Standar McFarland yang merupakan larutan kimia barium klorida (BaCl_2 1%) dan asam sulfat (H_2SO_4 1%)

digunakan untuk menstandarisasi jumlah perkiraan bakteri dalam suspensi cair dengan membandingkan secara visual kekeruhan suspensi uji dengan Standar McFarland. Standar yang paling umum digunakan di laboratorium mikrobiologi klinis adalah Standar McFarland 0,5, yang digunakan dalam pengujian sensitivitas antimikroba dan pengujian kinerja media kultur. Suspensi yang menyerupai Standar 0,5 McFarland diperkirakan memiliki jumlah bakteri sebanyak $1,5 \times 10^8$ /mL (McFarland, 1907).

Biakan bakteri sebanyak disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9%. Suspensi kemudian dibandingkan pada Standar 0,5 McFarland yang telah diaduk secara homogen terlebih dahulu. Suspensi dikatakan telah terstandarisasi bila diperoleh kekeruhan yang paling menyerupai dengan kekeruhan Standar 0,5 McFarland (CLSI, 2021).

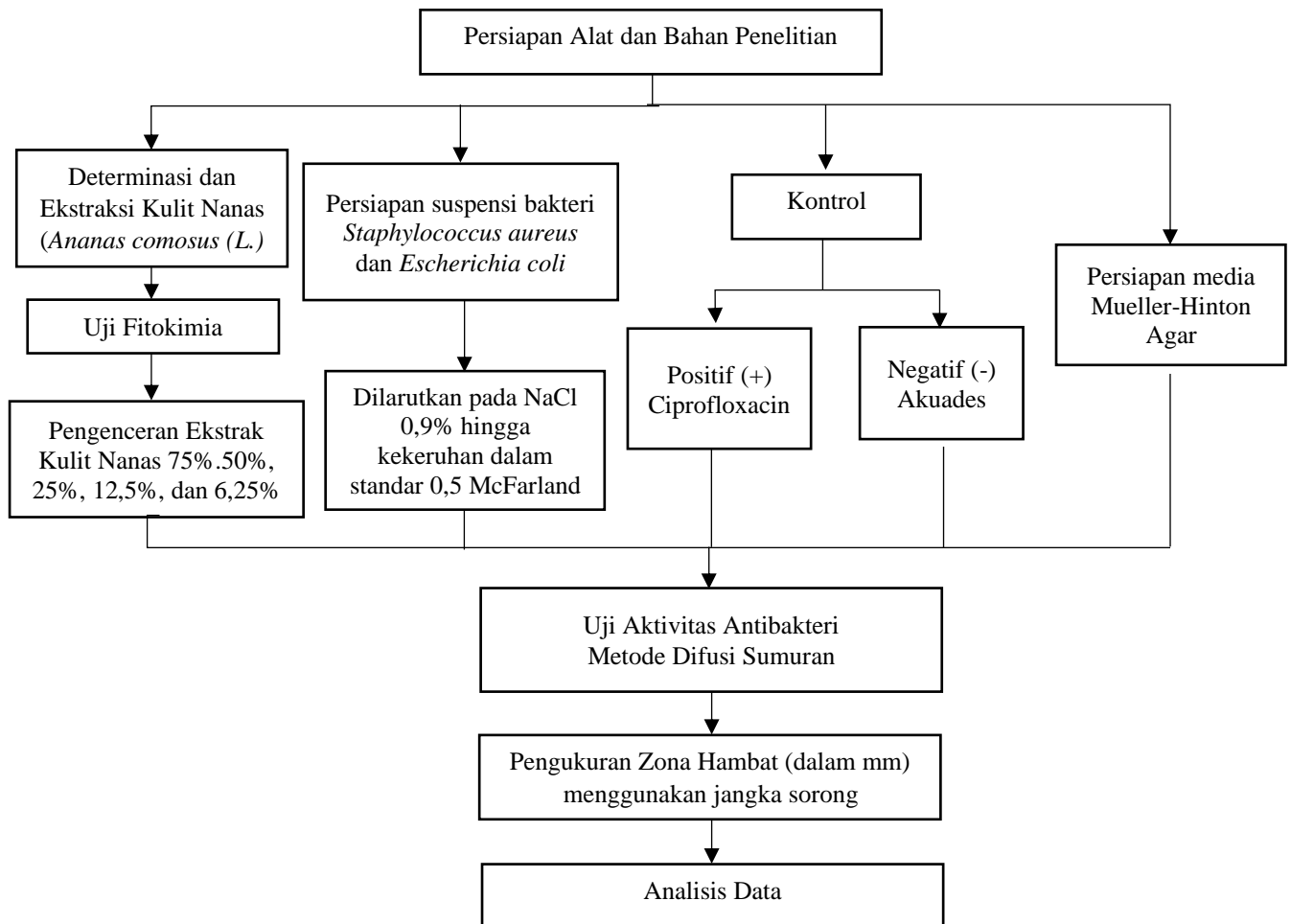
3.7.7. Uji Aktivitas Antibakteri

- a. Pengujian didahului dengan persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. Persiapan meliputi sterilisasi, pemosisian, dan pemisahan alat-alat steril dan non steril serta pelabelan.
- b. Suspensi bakteri yang sebelumnya telah disesuaikan dengan Standar 0,5 Mc Farland dipersiapkan sebanyak 100 μ l untuk tiap 20 ml larutan MHA. Maka dari 150 ml larutan pada tiap kelompok jenis bakteri, total suspensi bakteri adalah sebanyak 750 μ l atau 0,75 ml.
- c. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam larutan MHA yang dalam keadaan suhu hangat kuku
- d. Suspensi dan larutan MHA diaduk secara homogen lalu kemudian dituangkan ke dalam cawan petri (*plate*) yang telah diberi label masing-masing sebanyak 20 ml.
- e. Karena terdapat 7 (tujuh) kelompok penelitian yang dibagi dalam 2 *plate* (masing-masing *plate* dibagi 4 kuadran),

maka untuk satu jenis bakteri dalam satu kali pengulangan digunakan sebanyak 2 (dua) cawan petri/*plate*.

- f. Selagi larutan agar dalam keadaan cair, pipet pelubang yang telah dipotong dan disterilkan diletakkan menancap pada agar dengan jarak yang cukup antar keempat kuadran.
- g. Setelah agar memadat, pipet pelubang dicabut hingga membentuk lubang sumuran. Lubang sumuran yang telah dibuat kemudian diisi dengan masing-masing larutan ekstrak dan kontrol sebanyak 100 μ l.
- h. Media yang telah ditetesi larutan ekstrak dan kontrol didiamkan terlebih dahulu selama ± 10 menit untuk memberi waktu larutan berdifusi ke dalam media agar
- i. Setelah didiamkan, media percobaan ditutup menggunakan penutup (*plastic wrap*) dan kemudian media diinkubasikan selama 24 jam di suhu 37° C di dalam inkubator.
- j. Pendataan hasil dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menggunakan jangka sorong
- k. Pengulangan akan dilakukan sebanyak 3 kali ($n = 3$)

3.8. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

3.9. Rencana Pengelolaan dan Analisis Data

Pengolahan data dalam penelitian ini mengikuti langkah-langkah antara lain:

a. Editing

Pengecekan data-data yang dikumpulkan dari hasil pengukuran dalam penelitian guna mendeteksi kesalahan saat memasukkan data.

b. Coding

Proses dalam mengkode data pada masing-masing hasil pengukuran penelitian yang diatur untuk mempermudah pengolahan data.

c. Entry dan Processing

Data yang telah diberi kode akan dianalisis dengan memasukan data tersebut ke dalam program.

d. Tabulating

Data-data hasil penelitian yang telah dianalisis dengan program dimasukkan ke dalam tabel sesuai kriteria yang telah ditentukan.

Analisis data menggunakan *software* yang akan mengolah data menjadi 3 jenis analisis data, yaitu :

1. Analisis Univariat

Analisis univariat dalam penelitian ini dilakukan untuk menilai ukuran zona hambat, mean, dan standar deviasi.

2. Analisis Bivariat

Data yang sudah diperoleh dianalisis menggunakan uji Saphiro- wilk test untuk menguji normalitas data dan dilanjutkan uji homogenitas dengan *Levene* test. Distribusi data normal jika p values $> 0,05$ dan jika p -values $< 0,05$ distribusi data tidak normal. Apabila data terdistribusi normal maka digunakan uji statistik *One Way* ANOVA.

Apabila data terdistribusi tidak normal dan atau homogen maka digunakan uji alternatif *Kruskal-Wallis*. Analisis ini digunakan untuk

menganalisis variabel bebas dan terikat, yaitu untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak metanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hipotesis akan dianggap bermakna bila hasil p-values $< 0,05$ dan dianggap tidak bermakna apabila p-values $> 0,05$.

3.10. Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik penelitian dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tanggal 29 November 2024 di Kota Bandar Lampung, dengan nomor surat No. 5430/UN26.18/PP/05.02.00/2024. Surat Persetujuan Etik dapat dilihat pada Lampiran 1.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian uji aktivitas antibakteri metode difusi sumuran ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) yang diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut metanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan pengujian mendalam terkait kadar masing-masing senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak yang digunakan menggunakan metode uji fitokimia lain
2. Perlu dilakukan pengujian tambahan terhadap senyawa bromelin yang menjadi senyawa khas yang ada pada tanaman nanas
3. Perlu dilakukan penelitian ekstrak kulit nanas dengan metode pengujian atau jenis bakteri berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Ghani, M. M. 2016. Traditional medicinal plants of Nigeria: an overview. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 7(5), 220-247
- Adelberg, Jawetz, & Melnick. 2008. *Medical Microbiology* (Vol. 23). Penerbit Buku. Kedokteran EGC.
- Akram, M., Abdul Hamid, A. H., Khalil Ahmed, K. A., Abdul Ghaffar, A. G., Tayyaba Naveed, T. N., Saeed Ahmed, S. A., & Naveed Akhtar, N. A. 2013. Hypocholesterolemic activity of plants: a review
- Álvarez-Martínez, F. J., Barrajon-Catalán, E., Herranz-López, M., & Micol, V. 2021. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*, 90, 153626. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153626>
- Andrew, L. 2024. Infection prevention and control in the healthcare setting. *Transitions in Nursing-E-Book:Preparing for Professional Practice*, 209.
- Angraeni, D., & Rahmawati, A. 2014. Antibacterial Effectiveness of Pineapple (*Ananas Comosus*) Peel Extract on The Growth of *Streptococcus Mutans*. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Bashabsheh, R. H., AL-Fawares, O. L., Natsheh, I., Bdeir, R., Al-Khreshieh, R. O., & Bashabsheh, H. H. 2024. *Staphylococcus aureus* epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations and application of nanotherapeutics as a promising approach to combat methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Pathogens and Global Health*, 118(3), 209-231.
- Berlanga, M., Montero, M. T., Hernández-Borrell, J., & Viñas, M. 2004. Influence of the cell wall on ciprofloxacin susceptibility in selected wild-type Gram-negative and Gram-positive bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23(6), 627–630. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.12.015>

- Borges, A., José, H., Homem, V., & Simões, M. 2020. Comparison of Techniques and Solvents on the Antimicrobial and Antioxidant Potential of Extracts from *Acacia dealbata* and *Olea europaea*. *Antibiotics*, 9(2), 48.
- BPS. 2023. Produksi Tanaman Buah-Buahan 2021-2023. <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/NjIjMg==/produksi-tanaman-buah-buahan.html>
- Caesarita, D., Suryaatmaja, L., & Kristina, T. 2011. Pengaruh ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) 100% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari pioderma (Doctoral dissertation, Faculty of Medicine). University of Diponegoro.
- Cahyani, E. D., Munfarida, I., & Amrullah, A. 2024. Antibacterial Activity of Pineapple (*Ananas comosus*) Fruit Peel Extract Against *Escherichia coli*. *International Journal of Life Science and Agriculture Research*, 03(05). <https://doi.org/10.55677/ijlsar/V03I5Y2024-12>
- Campos, D., Ribeiro, T., Teixeira, J., Pastrana, L., & Pintado, M. 2020. Integral Valorization of Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) By-Products through a Green Chemistry Approach towards Added Value Ingredients. *Foods*, 9(1), 60. <https://doi.org/10.3390/foods9010060>
- Chen, C.-J., & Huang, Y.-C. 2014. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(7), 605–623. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12705>
- Clinical and Laboratory Standard Institute. 2021. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (31st ed.).
- Dabesor, A. P., Asowata-Ayodele, A. M., & Umoiette, P. 2017. Phytochemical compositions and antimicrobial activities of *Ananas comosus* peel (M.) and *Cocos nucifera* kernel (L.) on selected food borne pathogens. *American Journal of Plant Biology*, 2(2), 73-76
- Darmadi, S. 2008. Infeksi Nosokomial Problematika & Pengendaliannya. Salemba Medika.
- David, M. Z., & Daum, R. S. 2017. Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections (pp. 325–383). https://doi.org/10.1007/82_2017_42
- Debnath, B., Singh, W. S., & Manna, K. 2023. A phytopharmacological review on *Ananas comosus*. *Advances in Traditional Medicine*, 23(2), 291–298. <https://doi.org/10.1007/s13596-021-00563-w>
- Delita, K., Damiri, N., Sitorus, R. J., & Hariani, P. L. 2023. Phytochemical and Larvicidal Activity of Pineapple (*Annanas comosus* L.) Peel Extract Against *Aedes aegypti* of Dengue Vector. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 14(1), 28–32.

- Dong, S., Yang, X., Zhao, L., Zhang, F., Hou, Z., & Xue, P. 2020. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. *Industrial Crops and Products*, 149, 112350. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112350>
- Dowshen, S., Izenberg, N., & Bass, E. 2002. *The Kids Health Guide for Parents*. McGraw Hill Professional.
- Ergina, E., Nuryanti, S., & Pursitasari, I. 2014. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165-172.
- Eshamah, H., Han, I., Naas, H., Rieck, J., & Dawson, P. 2013. Bactericidal Effects of Natural Tenderizing Enzymes on *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Research*, 2(1), 8. <https://doi.org/10.5539/jfr.v2n1p8>
- Fadlilaturrahmah, F., Wathan, N., Firdaus, A. R., & Arishandi, S. 2020. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Daun Kareho (*Callicarpa longifolia* Lam). *Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1), 23–33. <https://doi.org/10.36805/farmasi.v5i1.977>
- Ghozali, I. 2018. *Aplikasi analisis multivariete dengan program IBM SPSS 23*. (9th ed.). Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Graca, M., Barlocher, F., & Gessner, M. 2007. *Method to Study Litter Decomposition: A Practical Guide* (151st ed.). Springer.
- Greenwood, D., Finch, R., Davey, P., & Wilcox, M. 1995. *Antibiotics, susceptibility (Sensitivity) test antimicrobial and chemotherapy*. . McGraw Hill Company.
- Gunwantrao, B. B., Bhausheb, S. K., Ramrao, B. S., & Subhash, K. S. 2016. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of orange (*Citrus aurantium* L.) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) peel extract. *Annals of Phytomedicine : An International Journal*, 5(2), 156–160. <https://doi.org/10.21276/ap.2016.5.2.22>
- Hasanah, R. uswatun, Yuziani, & Sri Rahayu, M. 2023. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manusia Dan Kesehatan*, 6(1), 11–18. <https://doi.org/10.31850/makes.v6i1.1659>
- Hassan, A., Othman, Z., & Siriphanich, J. 2011. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). In *Postharvest Biology and Technology of Tropical and*

Subtropical Fruits (pp. 194–218e). Elsevier.
<https://doi.org/10.1533/9780857092618.194>

- Helen, P. M., Teena, D. S., Jacob, J. G., James, J. J., & Anitha, C. 2019. Preliminary Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Leaf, Stem and Fruit *Ananas comosus*. *World J. Pharm. Res*, 8(5), 1407-1416
- Hill, E. E., Vanderschueren, S., Verhaegen, J., Herijgers, P., Claus, P., Herregods, M.-C., & Peetermans, W. E. 2007. Risk Factors for Infective Endocarditis and Outcome of Patients With *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Mayo Clinic Proceedings*, 82(10), 1165–1169.
<https://doi.org/10.4065/82.10.1165>
- Hostettmann, K., & Marston, A. 1995. Chemistry and pharmacology of natural products (Vol. 548, pp. 326-327). Cambridge, UK:: Cambridge University Press.
- Huang, Y., Chow, C., & Fang, Y. 2020. Preparation and physicochemical properties of fiber-rich fraction from pineapple peels as a potential ingredient. *Journal of Food and Drug Analysis*, 19(3).
<https://doi.org/10.38212/2224-6614.2179>
- Husniah, I., & Tri Umiana Soleha. 2023. Antibacterial Activity of Honey Pineapple Peel Extract (*Ananas comosus* [L] Merr.) against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *WMJ (Warmadewa Medical Journal)*, 8(1), 16–22. <https://doi.org/10.22225/wmj.8.1.5918.16-22>
- Jatav, J., Tarafdar, A., Saravanan, C., & Bhattacharya, B. 2022. Assessment of Antioxidant and Antimicrobial Property of Polyphenol-Rich Chitosan-Pineapple Peel Film. *Journal of Food Quality*, 2022, 1–10.
<https://doi.org/10.1155/2022/8064114>
- Jovanović, M., Milutinović, M., Kostić, M., Miladinović, B., Kitić, N., Branković, S., & Kitić, D. 2018. Antioxidant capacity of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) extracts and juice. *Lekovite Sirovine*, 38, 27–30. <https://doi.org/10.5937/leksir1838027J>
- Juariah, S., Irawan, M., & Yuliana, Y. 2018. Efektifitas Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 1(2), 1–9.
- Kafeel, H. 2016. Antidepressant activity on methanolic extract of *Ananas comosus* linn peel (meacp) by using forced swim and tail suspension apparatus in mice
- Kemenkes. 2017. Farmakope Herbal Indonesia (2nd ed.). Kemenkes RI.
- Kemenkes, RI. 2013. Riset kesehatan dasar; Riskesdas.
- Kemenkes, RI. 2023. Survei Kesehatan Indonesia Tahun 2023 Dalam Angka.

- Krajewska-Patan, A., Bobkiewicz-Kozłowska, T., Ozarowski, M., & Mrozikiewicz, P. M. 2005. Interactions between herbal and synthetic drugs-advantages and risks"-impresions of the first year of activity. *Herba Polonica. International Scientific Network 2004-2006*, 51(1).
- Kulkarni, D., Wang, X., Sharland, E., Stansfield, D., Campbell, H., & Nair, H. 2022. The global burden of hospitalisation due to pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* in the under-5 years children: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*, 44, 101267. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101267>
- Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, AK., Wertheim, H., Sumpradit, N., & Cars, O. 2013. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(12), 1057-1098.
- Liu, M., Feng, M., Yang, K., Cao, Y., Zhang, J., Xu, J., Hernández, S. H., Wei, X., & Fan, M. 2020. Transcriptomic and metabolomic analyses reveal antibacterial mechanism of astringent persimmon tannin against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from pork. *Food Chemistry*, 309, 125692. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125692>
- Loon, Y. K., Satari, M. H., & Dewi, W. 2018. Antibacterial effect of pineapple (*Ananas comosus*) extract towards *Staphylococcus aureus*. *Padjadjaran Journal of Dentistry*, 30(1), 1. <https://doi.org/10.24198/pjd.vol30no1.16099>
- Loretz, B., Oh, Y.-K., Hudson, S., Gu, Z., & Lehr, C.-M. 2021. Drug delivery for fighting infectious diseases: a global perspective. *Drug Delivery and Translational Research*, 11(4), 1316–1322. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-01009-1>
- Lubaina, A. S., Renjith, P. R., & Kumar, P. 2019. Antibacterial potential of different extracts of pineapple peel against gram-positive and gram-negative bacterial strains. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(S1), 66–70.
- Mackey, T. K., Liang, B. A., Cuomo, R., Hafen, R., Brouwer, K. C., & Lee, D. E. 2014. Emerging and reemerging neglected tropical diseases: A review of key characteristics, Risk factors, And the policy and innovation environment. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 949–979. <https://doi.org/10.1128/CMR.00045-14>
- Malangngi, L., Sangi, M., & Paendong, J. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.423>

- Mboi, N., Syailendrawati, R., Ostroff, S. M., Elyazar, I. R. F., Glenn, S. D., Rachmawati, T., Nugraheni, W. P., Ali, P. B., Trisnantoro, L., Adnani, Q. E. S., Agustiya, R. I., Laksono, A. D., Aji, B., Amalia, L., Ansariadi, A., Antriyandarti, E., Ardani, I., Ariningrum, R., Aryastami, N. K., ... Mokdad, A. H. 2022. The state of health in Indonesia's provinces, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Global Health*, 10(11), e1632–e1645. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(22\)00371-0](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(22)00371-0)
- McFarland, J. 1907. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspension. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 49(14), 1176–1178. <https://doi.org/10.1001/jama.1907.25320140022001f>
- Megawati. 2020. Review: Phytochemical Screening, Secondary Metabolites and Biological Activities of Southeast Sulawesi Plants. *Jurnal Akta Kimia Indonesia*, 13, 101–109. <https://doi.org/10.20956/ica.v1>
- Mulyadi, Moh., Wuryanti, W., & Sarjono, P. R. 2017. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), 130–135. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.3.130-135>
- Muziburrahman, M., Husada, D., & Utomo, B. 2022. Identifikasi Bakteri Penyebab Diare pada Balita Menggunakan Metode Kultur di Bima, Indonesia . *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 10(1), 95–102.
- Najib, M., Permana, H., & Rizqil, I. 2013. Potensi Enzim Bromelin Pada Bonggol Nanas (*Ananas Comosus*) Sebagai Bahan Anti Plak Dalam Pasta Gigi. *Jurnal MKGI*, 2(1), 16–2.
- Nurdyansyah, F., & Widyastuti, D. A. 2022. JAHE MERAH Senyawa Bioaktif, Manfaat dan Metode Analisisnya. CV WIDINA MEDIA UTAMA.
- Padmasari, P., Astuti, K., & Warditiani, N. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 279–764.
- Pelczar, M., & Chan, E. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press.
- Pendong, C. H. A., Suoth, E. J., Fatimawali, F., & Tallei, T. E. 2024. Network Pharmacology Approach to Understanding the Antidiabetic Effects of Pineapple Peel Hexane Extract. *Malacca Pharmaceutics*, 2(1), 24–32. <https://doi.org/10.60084/mp.v2i1.162>
- Pratiwi, S. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga.

- Radji, M., Fauziah, S., & Aribinuko, N. 2011. Antibiotic sensitivity pattern of bacterial pathogens in the intensive care unit of Fatmawati Hospital, Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(1), 39–42. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60065-8](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60065-8)
- Rahman, N., Dewi, N., & Bohari. 2018. Phytochemical and antioxidant activity of avocado leaf extract (*Persea americana* Mill.). *Asian Journal of Scientific Research*, 11(3), 357–363.
- Ramadani, A. H., Karima, R., & Ningrum, R. S. 2022. Antibacterial Activity of Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Eco-enzyme Against Acne Bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Prapionibacterium acnes*). *J. Chem. Res. Indonesian Journal of Chemical Research*, 9(3), 201–207. <https://doi.org/10.30598/ijcr>
- Ramadhan, W., Islami, D., Dini Ma Iballa, B., Oktariani, E., Amin, M., Dwi Lestari, V., Studi Pendidikan Dokter, P., Kedokteran, F., Abdurrab, U., Studi Farmasi, P., Farmasi, F., Kesehatan, I., & Studi Profesi Bidan, P. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Nanoemulsi Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas Comosus* L. Merr). In *Jurnal Farmasi* (Vol. 2).
- Ramadheni, P., & Mukhtar, H. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* (L.) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Eschericia Coli* Dengan Metode Difusi Agar. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 2(2), 34-45.
- Ramos, S., Silva, V., de Lurdes Enes Dapkevicius, M., Caniça, M., Tejedor-Junco, M. T., Igrejas, G., & Poeta, P. 2020. *Escherichia coli* as commensal and pathogenic bacteria among food-producing animals: Health implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) production. *Animals*, 10(12), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ani10122239>
- Reiza, I. A., Rijai, L., & Mahmudah, F. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 10, 104–108. <https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.371>
- Roopashree, K. M., & Naik, D. 2019. Advanced method of secondary metabolite extraction and quality analysis. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 1829–1842.
- Salamah, N., & Widiasari, E. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L.) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2, 2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5, 25–34.
- Salleh, M. Z., Nik Zuraina, N. M. N., Hajjissa, K., Ilias, M. I., & Deris, Z. Z. 2022. Prevalence of Multidrug-Resistant Diarrheagenic *Escherichia coli*

- in Asia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics*, 11(10), 1333. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101333>
- Sánchez-Burgos, J. A., & de Lourdes García-Magaña, M. 2017. Pineapples (*Ananas comosus*). *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*, (2nd Edition).
- Saranghi, P. K., Singh, A. K., Srivastava, R. K., & Gupta, V. K. 2023. Recent Progress and Future Perspectives for Zero Agriculture Waste Technologies: Pineapple Waste as a Case Study. In *Sustainability* (Switzerland) (Vol. 15, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/su15043575>
- Sharma, D., Patel, R. P., Zaidi, S. T. R., Sarker, Md. M. R., Lean, Q. Y., & Ming, L. C. 2017. Interplay of the Quality of Ciprofloxacin and Antibiotic Resistance in Developing Countries. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00546>
- Sigmaaldrich. 2018. Mueller Hinton Agar (M-H Agar).
- Siregar, & Syofian. 2014. *Statistik Parametrik untuk Penelitian Kuantitatif Dilengkapi dengan Perhitungan Manual dan Aplikasi SPSS Versi 17*. Bumi Aksara.
- Sitepu, N., Rahman, A. O., & Puspasari, A. 2022. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Kulit Nanas (*Ananas Comosus*) N-Heksana Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Journal of Medical Studies*, 2(1), 59-67. <https://doi.org/10.22437/joms.v2i1.18093>
- Tivani, I., & Sari, M. P. 2021. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Nanas Madu dan Kulit Buah Pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 18(1), 45-53.
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. 2015. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14> Tortora GJ, Funke BR, & Case CL. (2007). *Microbiology* (9th ed.). Pearson Education.
- Uhlemann, A.-C., Otto, M., Lowy, F. D., & DeLeo, F. R. 2014. Evolution of community- and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 563–574. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.04.030>
- Utaminingsih, B., Dharmana, E., & Purnomo, H. 2015. . Pengaruh Pemberian Minyak *Nigella Sativa* Dan Kombinasinya Dengan Seftriakson Terhadap Jumlah Kuman Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

(Mrsa) Pada Kultur Otak Mencit Babl/C. (Doctoral dissertation, Faculty of Medicine).

- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. 2021. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 2041. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>
- Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. 2021. Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects. a summary. In *Foods* (Vol. 10, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods10102249>
- Vishwajith, .2023. Comparison of in-vitro Antibiotic Susceptibility of Ciprofloxacin, Cefotaxime, Ceftazidime and Cefepime against Gram Negative Bacilli Infections - A Study from Tertiary Care Centre. *Journal of Medical Sciences and Health*, 9(1), 64–69. <https://doi.org/10.46347/jmsh.v9i1.22.369>
- Waznah, U., Rahmasari, K., & Ningrum, W. 2021. Bioaktivitas Ekstrak Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) dalam Sabun Cuci Piring sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 3(4), 227–234.
- Widjaja, E., Rahayuningsih, R., Rahajoe, J., Ubaidillah, R., Maryanto, I., Walujo, E., & Semiadi, G. 2014. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia*. Kementerian Lingkungan Hidup Dan Bappenas. LIPI Press.
- Winstead, A., Hunter, J., & Griffin, P. 2024. *Escherichia coli*, Diarrheagenic.
- Yamaguchi, T. 2022. Antibacterial effect of the combination of terpenoids. *Archives of Microbiology*, 204(8), 520. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03142-y>
- Zhao, F., Yang, H., Bi, D., Khaledi, A., & Qiao, M. 2020. A systematic review and meta-analysis of antibiotic resistance patterns, and the correlation between biofilm formation with virulence factors in uropathogenic *E. coli* isolated from urinary tract infections. *Microbial Pathogenesis*, 144, 104196. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104196>