

**UJI *IN VITRO* AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK  
ETANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin-resistant*  
*Staphylococcus aureus* (MRSA)**

---

**SKRIPSI**

---



**UMSU**  
Unggul | Cerdas | Terpercaya

Oleh:

DHEA AGUSTINA

2208260033

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**

**MEDAN**

**2025**

**UJI *IN VITRO* AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK  
ETANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin-resistant*  
*Staphylococcus aureus* (MRSA)**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh kelulusan  
Sarjana Kedokteran**



**UMSU**  
Unggul | Cerdas | Terpercaya

Oleh:

DHEA AGUSTINA

2208260033

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA  
MEDAN  
2025**

## HALAMAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan seluruh sumber yang dikutip maupun dirujuk telah dinyatakan dengan benar.

Nama : Dhea Agustina

NPM : 2208260033

Judul Skripsi : UJI *IN VITRO* AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK  
ETANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin-resistant*  
*Staphylococcus aureus* (MRSA)

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 19 Desember 2025



METER  
TEMPEL  
02517ANX247600973 (Dhea Agustina)



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN & PENGEMBANGAN  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**

Biro Administrasi : Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. 061-7350163 Ext. 11 Fax. 061-7363488 E-mail : [fk.umsu@yahoo.com](mailto:fk.umsu@yahoo.com)



**HALAMAN PENGESAHAN**

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : DHEA AGUSTINA

NPM : 2208260033

Judul : *UJI IN VITRO* AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN  
JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN  
BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian  
persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

**DEWAN PENGUJI**

Pembimbing,

(dr. Annisa, MKT)

Penguji 1

(dr. Ance Roslina, M.Kes., Sp.KKLP., Subsp. FOMC)

Penguji 2

(Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd., M.Kes)

Mengetahui,

Dekan FKIK UMSU



(dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL., Subsp. Rino(K)  
NIDN : 0106098201

Ketua Program Studi  
Pendidikan Dokter  
FKIK UMSU

(dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked)  
NIDN : 0112098605

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 19 Desember 2025

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah subhanahu Wa Ta'ala karena rahmat dan karunia-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai upaya dalam memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini, saya menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas segala syukur, rahmat, dan karunianya hingga penulis dapat berada di tahap ini.
2. Untuk papa dan mama, pondasi hidup dan alasan penulis dapat berdiri hingga hari ini. Terima kasih atas segala-galanya, kata-kata tidak akan pernah cukup untuk menggambarkan rasa terima kasih dan cinta ini. Terima kasih untuk setiap doa, dukungan, motivasi, dan pengorbanan tanpa syarat yang tak pernah kalian hitung. Seluruh pencapaian ini penulis persembahkan kepada papa dan mama.
3. dr. Siti Masliana Siregar, Sp. THT-KL (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
5. dr. Annisa, MKT selaku Dosen Pembimbing Akademik dan Dosen Pembimbing skripsi. Terima kasih yang tak terhingga untuk bimbingan yang beliau berikan sejak semester satu, serta untuk setiap waktu, tenaga, dan kesabaran yang beliau luangkan untuk membimbing proposal hingga skripsi ini.
6. dr. Ance Roslina, M.Kes., Sp.KKLP., Subsp. FOMC selaku Dosen Penguji 1 yang telah memberikan arahan dan saran untuk menyempurnakan skripsi ini.

7. Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd., M.Kes selaku Dosen Penguji 2 yang telah memberikan arahan dan saran untuk menyempurnakan skripsi ini.
8. Kakak Laboratorium, Kak Triana dan Kak Endah yang turut melancarkan penelitian saya.
9. Kakak, Abang, dan Adik saya yang sangat saya sayangi, Kak Vabella Desdicha, Bang Muhammad Irfan, Kak Varischa Ramadanti, dan Adik Maher Firjatullah. Terima kasih untuk setiap bantuan, dukungan, canda, dan tawa kalian. Keberadaan kalian memberikan warna yang membuat perjalanan ini begitu indah dan ringan.
10. Teman-teman seperjuangan: Viki, Tata, Lala, Heldi. Terima kasih untuk setiap diskusi, bantuan, dan kebersamaan yang mengisi hari-hari studi. Terima kasih untuk tetap selalu bersama, saling menemani, dan menjadi penenang di tengah keributan.
11. Teman-teman saya, Tika, Tama, Pebi, Farah, Dipa, Dila untuk setiap dukungan, energi positif, dan bantuan yang tak hentinya selalu diberikan.

Saya menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran demi kesempurnaan tulisan ini sangat saya harapkan. Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas kebaikan semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian saya. Semoga skripsi ini membawa manfaat dalam upaya pengembangan ilmu pengetahuan.

Medan, 19 Desember 2025



(Dhea Agustina)

## HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara,  
saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dhea Agustina

NPM : 2208260033

Fakultas : Kedokteran

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi saya yang berjudul: **“Uji *In Vitro* Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)”**, Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 19 Desember 2025

Yang menyatakan



(Dhea Agustina)

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Resistensi *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan ancaman global yang mendorong pencarian alternatif pengobatan baru. Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri, namun efektivitasnya terhadap MRSA masih perlu dibuktikan. **Tujuan:** Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis terhadap pertumbuhan MRSA secara *in vitro* serta membandingkannya dengan antibiotik standar. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *post-test only control group design*. Ekstrak etanol 70% diuji pada seluruh konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap MRSA ATCC 43300 menggunakan metode difusi cakram. Vankomisin dan Akuades digunakan sebagai kontrol positif dan negatif. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal–Wallis dan uji *post hoc* Mann–Whitney. **Hasil:** Ekstrak etanol daun jeruk nipis menunjukkan aktivitas antibakteri pada seluruh konsentrasi yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Rata-rata diameter zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 50% sebesar 12,46 mm. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi ekstrak, namun seluruh konsentrasi ekstrak menghasilkan zona hambat yang secara signifikan lebih kecil dibandingkan kontrol positif vankomisin (20,78 mm). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA dan berpotensi dikembangkan sebagai agen antimikroba alami, meskipun efektivitasnya masih lebih rendah dibandingkan vankomisin.

**Kata kunci:** *Citrus aurantifolia*, MRSA, aktivitas antibakteri, ekstrak etanol, difusi cakram.

## ABSTRACT

**Background:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) resistance is a global threat that urgently requires the search for new treatment alternatives. Lime leaves (*Citrus aurantifolia*) contain bioactive compounds with antibacterial activity, but their effectiveness against MRSA still needs to be evaluated. **Objective:** To evaluate the antibacterial activity of lime leaf ethanol extract against MRSA growth in vitro and to compare it with a standard antibiotic. **Methods:** This laboratory experimental study used a post-test only control group design. A 70% ethanol extract was tested at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% against MRSA ATCC 43300 using the disk diffusion method. Vancomycin and distilled water were used as positive and negative controls. Data were analyzed using the Kruskal–Wallis test followed by the post hoc Mann–Whitney test. **Results:** The extract showed antibacterial activity at all tested concentrations, as indicated by the formation of inhibition zones. The highest average inhibition zone was observed at the 50% concentration (12.46 mm). Statistical analysis showed no significant differences among extract concentrations; however, all concentrations produced significantly smaller inhibition zones compared to the positive control, vancomycin (20.78 mm). **Conclusion:** Lime leaf ethanol extract exhibits antibacterial activity against MRSA and may be developed as a natural antimicrobial agent, although its effectiveness is still lower than that of vancomycin.

**Keywords:** *Citrus aurantifolia*, MRSA, antibacterial activity, ethanol extract, disk diffusion

## DAFTAR ISI

|                                                                                   |             |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>HALAMAN JUDUL .....</b>                                                        | <b>i</b>    |
| <b>HALAMAN ORISINALITAS.....</b>                                                  | <b>ii</b>   |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>                                                    | <b>iii</b>  |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                                                        | <b>iv</b>   |
| <b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK<br/>KEPENTINGAN AKADEMIS .....</b> | <b>vi</b>   |
| <b>ABSTRAK .....</b>                                                              | <b>vii</b>  |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                             | <b>viii</b> |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                                            | <b>ix</b>   |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                                                         | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                                         | <b>xiii</b> |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                                                      | <b>xiv</b>  |
| <b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>                                                      | <b>xv</b>   |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>                                                    | <b>1</b>    |
| 1.1. Latar Belakang.....                                                          | 1           |
| 1.2. Rumusan Masalah .....                                                        | 4           |
| 1.3. Tujuan Penelitian.....                                                       | 5           |
| 1.3.1. Tujuan Umum .....                                                          | 5           |
| 1.3.2. Tujuan Khusus .....                                                        | 5           |
| 1.4. Manfaat Penelitian.....                                                      | 5           |
| 1.4.1. Manfaat Akademik.....                                                      | 5           |
| 1.4.2. Manfaat Praktis .....                                                      | 5           |
| <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                                                | <b>6</b>    |
| 2.1. Klasifikasi dan Morfologi Tumbuhan Jeruk Nipis.....                          | 6           |

|                                     |                                                                            |           |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.                                | Kandungan Daun Jeruk Nipis.....                                            | 7         |
| 2.3.                                | <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                         | 8         |
| 2.4.                                | <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....             | 9         |
| 2.5.                                | Patogenesis <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)..... | 9         |
| 2.6.                                | Antibiotik.....                                                            | 10        |
| 2.6.1.                              | Sifat Antibakteri .....                                                    | 10        |
| 2.7.                                | Pilihan Antibiotik .....                                                   | 10        |
| 2.8.                                | Metode Difusi Cakram .....                                                 | 12        |
| 2.9.                                | Kerangka Teori.....                                                        | 13        |
| 2.10.                               | Kerangka Konsep.....                                                       | 14        |
| <b>BAB 3 METODE PENELITIAN.....</b> |                                                                            | <b>15</b> |
| 3.1.                                | Definisi Operasional.....                                                  | 15        |
| 3.2.                                | Jenis dan Rancangan Penelitian.....                                        | 16        |
| 3.3.                                | Tempat dan Waktu Penelitian .....                                          | 16        |
| 3.4.                                | Populasi dan Sampel Penelitian .....                                       | 16        |
| 3.4.1.                              | Besar Sampel.....                                                          | 16        |
| 3.5.                                | Alat dan Bahan .....                                                       | 17        |
| 3.5.1.                              | Alat.....                                                                  | 17        |
| 3.5.2.                              | Bahan .....                                                                | 17        |
| 3.6.                                | Cara Kerja.....                                                            | 17        |
| 3.6.1.                              | Identifikasi Daun Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ).....          | 17        |
| 3.6.2.                              | Pembuatan Simplisia Daun Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) .....  | 18        |
| 3.6.3.                              | Pembuatan Ekstrak Daun jeruk nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) .....    | 18        |
| 3.6.4.                              | Uji Fitokimia Senyawa Aktif Dalam Daun Jeruk Nipis.....                    | 18        |
| 3.6.5.                              | Pembuatan Pengenceran Ekstrak ( <i>Citrus aurantifolia</i> ).....          | 19        |

|                       |                                                                                                                                              |           |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.6.6.                | Identifikasi Bakteri MRSA .....                                                                                                              | 20        |
| 3.6.7.                | Pembuatan Suspensi Bakteri .....                                                                                                             | 20        |
| 3.6.8.                | Uji Daya Hambat Dengan Metode Difusi Cakram .....                                                                                            | 20        |
| 3.7.                  | Pengolahan Data .....                                                                                                                        | 21        |
| 3.8.                  | Analisis Data .....                                                                                                                          | 21        |
| 3.9.                  | Alur Penelitian .....                                                                                                                        | 22        |
| <b>BAB 4</b>          | <b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                                                                                                            | <b>23</b> |
| 4.1.                  | Hasil Penelitian .....                                                                                                                       | 23        |
| 4.1.1.                | Hasil Uji Fitokimia Daun Jeruk Nipis .....                                                                                                   | 23        |
| 4.1.2.                | Hasil Pengujian Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis Terhadap Bakteri <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA) ..... | 23        |
| 4.2.                  | Pembahasan Penelitian .....                                                                                                                  | 26        |
| <b>BAB 5</b>          | <b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                                                                                                            | <b>31</b> |
| 5.1.                  | Kesimpulan .....                                                                                                                             | 31        |
| 5.2.                  | Saran .....                                                                                                                                  | 31        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> | <b>.....</b>                                                                                                                                 | <b>32</b> |
| <b>LAMPIRAN</b>       | <b>.....</b>                                                                                                                                 | <b>39</b> |

## DAFTAR TABEL

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 3.1 Definisi Operasional .....                                                        | 15 |
| Tabel 3.2 Tabel Pengenceran .....                                                           | 19 |
| Tabel 3.3 Tabel Kontrol .....                                                               | 19 |
| Tabel 4.1 Hasil uji fitokimia tanaman daun jeruk nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) ..... | 23 |
| Tabel 4.2 Diameter zona hambat ekstrak daun jeruk nipis pada beberapa konsentrasi. ....     | 23 |
| Tabel 4.3 Hasil uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dan uji homogenitas. ....           | 24 |
| Tabel 4.4 Hasil uji Kruskal-Wallis.....                                                     | 25 |
| Tabel 4.5 Hasil uji Post-hoc Mann-Whitney pada setiap pasangan kelompok perlakuan .....     | 25 |

## DAFTAR GAMBAR

|                                               |    |
|-----------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1 Daun Jeruk Nipis.....              | 7  |
| Gambar 2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 8  |
| Gambar 2.3 Kerangka Teori.....                | 13 |
| Gambar 2.4 Kerangka Konsep .....              | 14 |
| Gambar 3.1 Alur Penelitian.....               | 22 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1 <i>Ethical Clearance</i> .....        | 39 |
| Lampiran 2 Surat Izin Penelitian.....            | 40 |
| Lampiran 3 Identifikasi Tanaman .....            | 41 |
| Lampiran 4 Dokumentasi Kegiatan Penelitian ..... | 42 |
| Lampiran 5 Data Statistik SPSS.....              | 43 |
| Lampiran 6 Daftar Riwayat Hidup.....             | 53 |
| Lampiran 7 Artikel Ilmiah .....                  | 54 |

## DAFTAR SINGKATAN

|         |                                                                          |
|---------|--------------------------------------------------------------------------|
| AMR     | : <i>Antimicrobial Resistance</i>                                        |
| ANOVA   | : <i>Analysis of Variance</i>                                            |
| ATCC    | : <i>American Type Culture Collection</i>                                |
| CFU     | : <i>Colony Forming Unit</i>                                             |
| CLSI    | : <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>                     |
| DNA     | : <i>Deoxyribonucleic Acid</i>                                           |
| FDA     | : <i>Food and Drug Administration</i>                                    |
| MDR     | : <i>Multidrug Resistance</i>                                            |
| MHA     | : <i>Mueller-Hinton Agar</i>                                             |
| MIC     | : <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>                                |
| MRSA    | : <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>                     |
| PBP     | : <i>Penicillin-Binding Protein</i>                                      |
| PBP2a   | : <i>Penicillin-Binding Protein 2a</i>                                   |
| RNA     | : <i>Ribonucleic Acid</i>                                                |
| SCCmec  | : <i>Staphylococcal Cassette Chromosome mec</i>                          |
| SINAR   | : <i>Surveillance of Indonesian Network for Antimicrobial Resistance</i> |
| SPSS    | : <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>                     |
| TMP-SMZ | : <i>Trimethoprim–Sulfamethoxazole</i>                                   |
| WHO     | : <i>World Health Organization</i>                                       |

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Resistensi antimikroba merupakan proses alami yang dapat terjadi pada mikroorganisme terhadap antibiotik yang sebelumnya efektif membunuh mikroorganisme tersebut. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik telah ditemukan sejak lebih dari 50 tahun lalu, yaitu sekitar akhir tahun 1950-an. Dalam beberapa dekade terakhir, bakteri mulai mengembangkan berbagai mekanisme untuk melawan efek antibiotik, sehingga obat yang dulu efektif menjadi tidak lagi bekerja.<sup>1</sup> Laporan dari PLOS Medicine menyebutkan bahwa angka mortalitas global terkait resistensi antimikroba pada 2019 diperkirakan mendekati 5 juta jiwa, dengan beban terberat berada di negara-negara dengan tingkat ekonomi rendah hingga menengah. Masalah ini juga diperparah dengan penggunaan antibiotik yang berlebihan, yang meningkat sekitar 65% antara tahun 2000 hingga 2015, terutama di wilayah Asia dan Afrika. Fenomena resistensi ini bersifat multidimensional, yang tidak hanya mencakup manusia melainkan juga rantai pada hewan dan lingkungan, atau dikenal sebagai pendekatan One Health.<sup>2</sup> Selain itu, lemahnya sistem pengawasan resistensi dan ketimpangan akses terhadap antibiotik di berbagai negara turut mempercepat penyebaran resistensi ini.<sup>3</sup>

Patogen-patogen yang resisten terhadap banyak antibiotik dapat menyebabkan kondisi serius dan penyakit infeksius yang fatal, seperti infeksi aliran darah dan paru-paru.<sup>1</sup> Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan, antimicrobial resistance (AMR) menjadi penyebab 700.000 kematian pada tahun 2019, dan diperkirakan pada tahun 2050 jumlah ini akan terus meningkat hingga 20 juta jiwa, dengan dampak ekonomi mencapai US\$2,9 triliun.<sup>4</sup> Estimasi ini menjadikan AMR sebagai salah satu ancaman kesehatan terbesar pada abad ke-21. Perubahan demografi pada abad berikutnya akan menghasilkan populasi usia lanjut, yang meningkatkan prevalensi komorbiditas dan penurunan kekebalan tubuh, sehingga menciptakan populasi berisiko tinggi terhadap sepsis dan mortalitas akibat AMR.<sup>5</sup>

Penggunaan antibiotik tanpa resep masih menjadi permasalahan yang cukup serius di Indonesia karena dapat mempercepat terjadinya resistensi antimikroba.

Data menunjukkan bahwa sekitar 69% kunjungan ke toko obat berakhir dengan pembelian antibiotik tanpa resep, yang mencerminkan lemahnya pengawasan terhadap distribusi obat di lapangan.<sup>6</sup> Selain itu, sebagian besar masyarakat di beberapa wilayah juga pernah membeli antibiotik secara mandiri, baik melalui apotek maupun kios obat, tanpa adanya rekomendasi tenaga medis.<sup>7</sup> Tidak sedikit pula yang menghentikan konsumsi antibiotik sebelum dosisnya habis atau menggunakannya untuk penyakit yang bukan disebabkan oleh bakteri, seperti flu. Kondisi ini merupakan akibat rendahnya pemahaman dan edukasi publik mengenai tata cara penggunaan antibiotik yang tepat.<sup>8</sup> Meningkatnya resistensi antimikroba dan terbatasnya pilihan antibiotik yang efektif memperkuat urgensi pengembangan pengobatan alternatif non-antibiotik, seperti pemanfaatan tanaman obat, sebagai salah satu strategi untuk mengatasi masalah ini.<sup>9</sup>

Peningkatan kasus infeksi *Staphylococcus aureus* yang semakin luas kini menjadi ancaman global karena meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas, baik di rumah sakit maupun masyarakat umum.<sup>10</sup> *S. aureus* diketahui mengkolonisasi hingga 80% populasi, terutama pada mukosa hidung, dengan angka kejadian bakteremia melebihi 50 insiden per 100.000 orang per tahun.<sup>11</sup> Resistensinya terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam terutama disebabkan oleh gen *mecA*, yang menghasilkan enzim transpeptidase PBP2a. Enzim ini mengurangi efektivitas ikatan antibiotik terhadap target bakteri. Selain itu, produksi enzim  $\beta$ -laktamase oleh *S. aureus* membuat penisilin menjadi tidak efektif, karena kemampuan enzim yang dapat menghancurkan cincin  $\beta$ -laktam. Setelah penisilin ditemukan, resistensi pun berkembang cepat. Metisilin sempat menjadi solusi pada tahun 1950-an, namun resistensi kembali muncul, menghasilkan strain MRSA seperti yang dikenal hingga saat ini.<sup>12</sup>

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) awalnya dilaporkan di Inggris pada awal dekade 1960-an dan kemudian mengalami diseminasi ke berbagai wilayah di Eropa.<sup>12</sup> Bakteri ini menunjukkan resistensi terhadap berbagai antibiotik golongan  $\beta$ -laktam, termasuk *methicillin*, *penicillin*, *oxacillin*, *cefazolin*, dan *cefazolin*.<sup>13</sup> MRSA dapat menyebar melalui kontak langsung dengan orang yang terinfeksi maupun secara tidak langsung lewat benda-benda yang sudah terkontaminasi, seperti handuk, sarung tangan, atau peralatan medis. Selain itu,

orang yang membawa MRSA tanpa gejala juga bisa menularkannya kepada orang lain.<sup>14</sup> Infeksinya dapat menyerang aliran darah, tulang, paru-paru, hingga jantung, dan WHO telah menetapkan sebagai penyebab infeksi berat seperti sepsis, osteomielitis, dan pneumonia.<sup>12</sup>

Secara global, hasil meta-analisis yang mencakup 164.717 partisipan dari 29 negara menunjukkan bahwa tingkat kolonisasi MRSA pada populasi lansia yang tinggal di pusat perawatan mencapai 14,69%. Beberapa negara dengan prevalensi tertinggi termasuk Amerika Serikat (23,78%), Singapura (21,72%), dan China (18,07%), yang mencerminkan tingginya beban MRSA di berbagai belahan dunia.<sup>15</sup> Di kawasan Asia, prevalensi MRSA dilaporkan sebagai yang tertinggi secara global, dengan kisaran yang sangat bervariasi antara 2% hingga 80% di negara-negara Asia Tenggara.<sup>16</sup> Di Indonesia, menurut Surveillance of Indonesian Network for Antimicrobial Resistance (SINAR), tercatat bahwa 33% kasus infeksi MRSA ditemukan di rumah sakit pada tahun 2023.<sup>17</sup>

Saat ini, beberapa agen antimikroba yang masih direkomendasikan dalam tata laksana MRSA vankomisin, *sulfamethoxazole*, *linezolid*, *daptomycin*, *trimethoprim (TMP-SMZ)*, *tigecycline*, *clindamycin*, dan *quinupristin-dalfopristin*.<sup>18,19</sup> Namun, beberapa studi menunjukkan bahwa tingkat resistensi MRSA terhadap antibiotik tertentu mengalami kenaikan dalam beberapa tahun terakhir, yang mengindikasikan bahwa efektivitas antibiotik terhadap bakteri ini mulai tidak konsisten dari waktu ke waktu.<sup>20</sup> Oleh karena itu, kejadian ini sangat mendesak sehingga perlu mengembangkan alternatif pengobatan yang efektif melawan MRSA.

Ekstrak tumbuhan dipilih karena dinilai memiliki keamanan yang lebih baik, efektivitas yang cukup, serta kemungkinan terjadinya resistensi yang lebih kecil jika dibandingkan dengan antibiotik buatan.<sup>21</sup> Penelitian oleh Xu dkk. (2024) menunjukkan bahwa lebih dari 80 jenis flavonoid dari tumbuhan memiliki aktivitas yang kuat terhadap MRSA, bahkan dengan konsentrasi rendah.<sup>22</sup> Selain itu, ekstrak etanol daun *Citrus hystrix* (jeruk purut), yang masih termasuk dalam famili *Rutaceae* terbukti mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 22,2 mm.<sup>23</sup> Hal ini menunjukkan bahwa senyawa alami dari tumbuhan memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai alternatif

pengobatan infeksi bakteri. Salah satu spesies tumbuhan dari famili Rutaceae yang menarik untuk dikaji aktivitas antibakterinya adalah daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).<sup>24</sup>

Ekstrak daun jeruk nipis mengandung senyawa seperti flavonoid, saponin, glikosida, tanin, fenol, alkaloid, dan terpenoid, yang diketahui aktif dalam menekan perkembangan bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, serta bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan *Enterobacter faecalis*.<sup>25</sup> Daun dan kulit jeruk nipis merupakan bagian yang memiliki kandungan flavonoid paling tinggi dibandingkan bagian lain, yaitu  $36,876 \pm 0,386$  mg QE/g, sehingga berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan.<sup>26</sup> Mekanisme flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui mengganggu terjadinya inflamasi dengan cara mengganggu proses replikasi DNA dan transkripsi RNA.<sup>27</sup>

Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa etanol ekstrak daun jeruk nipis bisa menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* karena mengandung senyawa aktif seperti flavonoid dan tanin.<sup>28</sup> Namun, sampai saat ini pengujian tersebut masih fokus pada *Staphylococcus aureus* biasa dan belum mencakup jenis yang telah berkembang menjadi resisten terhadap metisilin, atau dikenal sebagai MRSA, yang sebenarnya sering menjadi penyebab infeksi serius di rumah sakit.<sup>29</sup> Beberapa studi luar negeri yang ditemukan menunjukkan bahwa minyak atsiri dari kulit jeruk nipis dapat melawan MRSA, namun belum dijumpai penelitian yang secara khusus menguji ekstrak etanol dari daunnya terhadap bakteri tersebut.<sup>30</sup> Karena itu, penelitian ini dianggap penting untuk melihat kemungkinan efek antibakterinya terhadap MRSA.

Berdasarkan uraian di atas, muncul ketertarikan untuk mengeksplorasi potensi ekstrak etanol daun jeruk nipis sebagai agen antimikroba terhadap MRSA.

## 1.2. Rumusan Masalah

Apakah ekstrak daun jeruk nipis memiliki potensi antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak daun jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui ekstrak daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)
2. Untuk mengidentifikasi konsentrasi yang dibutuhkan ekstrak daun jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA
3. Untuk membandingkan aktivitas antibakteri daun jeruk nipis dengan antibiotik standar dalam menghambat pertumbuhan MRSA

### **1.4. Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1. Manfaat Akademik**

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan sumber referensi mengenai kandungan antibakteri pada ekstrak daun jeruk nipis dalam menghambat perkembangan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) serta menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya yang berkaitan.

#### **1.4.2. Manfaat Praktis**

Menjadi referensi bagi para peneliti dalam mendapatkan informasi ilmiah yang bermanfaat bagi masyarakat dan industri farmasi mengenai potensi ekstrak Daun jeruk nipis sebagai agen antibakteri alami terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sehingga dapat menjadi alternatif dalam pengembangan obat antibakteri untuk membunuh MRSA.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Klasifikasi dan Morfologi Tumbuhan Jeruk Nipis

Tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan perdu berkayu dengan tinggi sekitar 3–5 meter, bercabang banyak, dan memiliki duri pada batang maupun percabangannya. Daunnya termasuk daun tunggal yang tumbuh berseling, berbentuk lonjong hingga oval, dengan ukuran panjang antara 4–6 cm dan lebar 2,5–4,5 cm, serta permukaan atasnya tampak hijau mengilap dengan luas daun rata-rata bisa mencapai 8,70 cm.<sup>31</sup> Variasi bentuk dan ukuran daun juga bisa dipengaruhi oleh posisi tumbuh di kanopi serta pencahayaan, terutama karena daun akan menyesuaikan diri terhadap lingkungan sekitarnya.<sup>32</sup> Secara mikroskopis, daun jeruk nipis memiliki jenis stomata anisositik dengan jumlah berkisar antara 55-66 per mm<sup>2</sup>, dan ukuran sel epidermis bagian atasnya berada di rentang panjang 13,75–22,5 µm dan lebar 7,5–12,5 µm, yang menjadi salah satu ciri khas dalam kelompok *Rutaceae*.<sup>33</sup>

Daun jeruk nipis mengandung berbagai senyawa kimia seperti glikosida, saponin, tanin, dan alkaloid, serta dilengkapi dengan mineral penting seperti kalsium, fosfor, magnesium, natrium, dan kalium, yang berperan dalam fungsi biologis tanaman maupun manusia.<sup>34</sup> Selain itu, senyawa bioaktif lain seperti fenolik, terpenoid, dan minyak atsiri juga ditemukan dalam daun ini, dan diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antioksidan, serta antiinflamasi.<sup>35</sup> Komponen-komponen tersebut diketahui memiliki kemampuan antibakteri melalui berbagai mekanisme, antara lain: mendegradasi integritas dinding sel, mengacaukan stabilitas membran sitoplasma, menyebabkan perubahan konformasi pada molekul protein dan materi genetik (asam nukleat), serta mengganggu fungsi enzim-enzim bakteri.<sup>25</sup>

Berikut taksonomi Jeruk Nipis dikutip dari Nurul Mawaddah

Warahmah (2021)

|           |                        |
|-----------|------------------------|
| Kingdom   | : <i>Plantae</i>       |
| Divisi    | : <i>Spermatophyta</i> |
| Subdivisi | : <i>Angiospermae</i>  |

Kelas : *Dicotyledonae*  
Ordo : *Rutales*  
Famili : *Rutaceae*  
Genus : *Citrus*  
Spesies : *Citrus aurantifolia* <sup>36</sup>



Gambar 2.1 Daun Jeruk Nipis

Sumber: Nurul Mawaddah Warahmah, 2021

## 2.2. Kandungan Daun Jeruk Nipis

### a. Alkaloid

Alkaloid berpotensi menyebabkan disfungsi pada membran sel bakteri, menghalangi proses pembentukan protein, serta memengaruhi stabilitas DNA. Sebagai kelompok antibiotik alami yang menjanjikan, alkaloid memiliki spektrum antibakteri yang luas dengan efek antibakteri yang baik pada strain klinis umum, termasuk bakteri yang resisten terhadap obat.<sup>27</sup>

### b. Saponin

Saponin menghambat efisiensi pemanfaatan glukosa dalam mikroorganisme, yang berdampak pada terganggunya pertumbuhan dan proliferasinya. Selain itu, senyawa ini juga menekan aktivitas enzim-enzim kunci dalam metabolisme sel serta mengganggu proses sintesis protein, sehingga akhirnya menyebabkan kematian bakteri.<sup>37</sup>

### c. Flavonoid

Flavonoid dapat merusak dan melemahkan membran bakteri sehingga terjadi kebocoran isi sel yang mengganggu keseimbangan ion. Flavonoid juga mengganggu jalur produksi energi bakteri.<sup>38</sup>

### d. Tanin

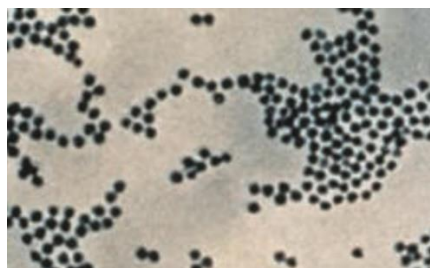
Tanin dapat menghambat aktivitas enzim, kemampuan adhesin bakteri dan transport sistem protein pada membran sel bakteri. Apabila gangguan berlanjut, maka proses pertumbuhan sel bakteri akan terhambat dan akhirnya berujung pada kematian sel tersebut.<sup>39</sup>

### 2.3. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram-positif dari famili *Staphylococcaceae*, berbentuk kokus dengan ukuran rata-rata berdiameter 1 mikrometer, dan cenderung membentuk kumpulan sel tak beraturan yang menyerupai gerombolan buah anggur.<sup>40</sup> Bakteri ini bersifat komensal dan mampu berkolonisasi pada kulit, mukosa hidung, serta epitel usus individu sehat tanpa menimbulkan gejala, dengan rongga hidung bagian anterior sebagai lokasi utama kolonisasi.<sup>41</sup> Namun, *S. aureus* juga merupakan patogen primer yang dapat menginfeksi manusia maupun hewan dan berpotensi menimbulkan penyakit infeksi sistemik yang parah bila berhasil memasuki aliran darah atau jaringan dalam tubuh.<sup>42</sup>

Berikut merupakan taksonomi bakteri *Staphylococcus aureus* :<sup>43</sup>

|         |                                |
|---------|--------------------------------|
| Domain  | : <i>Bacteria</i>              |
| Kingdom | : <i>Eubacteria</i>            |
| Ordo    | : <i>Eubacteriales</i>         |
| Famili  | : <i>Micrococcaceae</i>        |
| Genus   | : <i>Staphylococcus</i>        |
| Spesies | : <i>Staphylococcus aureus</i> |



Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus*

Sumber: Madigan et al., 2015, Brock Biology of Microorganisms, 14ed., pearson.

#### 2.4. ***Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan jenis *Staphylococcus aureus* yang prevalensinya tinggi di rumah sakit dan menyebabkan penyakit serius hingga kematian.<sup>44</sup> Insidensi kasus infeksi MRSA meningkat pada tenaga kesehatan dan masyarakat.<sup>45</sup> Secara global, prevalensi MRSA telah meningkat signifikan pada 1964 dan 2015. Faktor risiko infeksi ini termasuk rawat inap jangka panjang, perawatan intensif, luka terbuka, dan penyakit kronik. Dengan MRSA yang resisten terhadap banyak antibiotik menyebabkan pengobatannya terbatas.<sup>46</sup>

Vankomisin tetap menjadi antibiotik pilihan yang paling sering digunakan dalam pengobatan infeksi MRSA saat ini.<sup>47</sup> Namun, glikopeptida seperti vankomisin tidak mampu membentuk ikatan silang dengan residu D-alanyl-D-alanine, sehingga dapat menyebabkan perkembangan resistensi di kemudian hari.<sup>48</sup> Infeksi MRSA akan mudah beradaptasi pada antibiotik generasi baru dan dengan mudah melawan melalui berbagai mekanisme resistensi. Untuk menangani infeksi MRSA berat, digunakan antibiotik alternatif seperti linezolid, daptomycin, dan ceftaroline. Lembaga Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat (FDA) telah memberikan persetujuan penggunaan lima jenis anti-infeksi untuk penanganan MRSA yang resisten terhadap berbagai obat, yaitu linezolid, daptomycin, tigesiklin, telavancin, dan ceftaroline.<sup>46</sup>

#### 2.5. **Patogenesis *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

MRSA dan jenis bakteri Gram-positif lain dicirikan oleh dinding sel yang tersusun atas lapisan peptidoglikan tebal dengan ketebalan puluhan nanometer. Lapisan ini membentuk jaringan padat dengan pori-pori kecil dan tersusun atas rantai glikan yang dihubungkan oleh jembatan peptida, sehingga membuat dinding sel menjadi kuat dan mampu menahan tekanan dari dalam sel.<sup>49</sup> Enzim yang mengkatalisasi pembentukan dan pengikatan silang peptidoglikan disebut penicillin-binding proteins (PBPs), yang menjadi target utama antibiotik  $\beta$ -laktam seperti penisilin, metisilin, dan sefalosporin. Pada MRSA, resistensi terhadap antibiotik tersebut dimediasi oleh gen *mecA* atau *mecC* yang mengkode protein baru bernama PBP2a atau PBP2c. PBP2a memiliki afinitas rendah terhadap

$\beta$ -laktam sehingga tetap mampu melakukan cross-linking peptidoglikan meskipun antibiotik diberikan, menjadikan pengobatan menjadi tidak efektif.<sup>50</sup> Gen *mecA* ini berada pada elemen genetik bergerak bernama *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec).<sup>51</sup>

## 2.6. Antibiotik

Antibiotik sebagai senyawa yang dihasilkan oleh mikroba yang memiliki kemampuan untuk menghentikan proliferasi atau mematikan mikroorganisme lain, termasuk bakteri.<sup>52</sup> Zat ini awalnya ditemukan dari jamur *Penicillium notatum* yang ternyata bisa menghambat pertumbuhan bakteri.<sup>53</sup> Sejak saat itu, antibiotik berkembang menjadi bagian penting dalam dunia medis karena kemampuannya melawan infeksi tanpa merusak sel tubuh manusia. Hal ini dikenal dengan istilah toksisitas selektif, yaitu kemampuan antibiotik untuk bekerja hanya pada mikroba penyebab penyakit tanpa membahayakan sel inangnya.<sup>54</sup>

### 2.6.1. Sifat Antibakteri

#### a. Bakteriostatik

Merujuk pada zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan sementara proses perkembangbiakan mikroorganisme. Dalam kondisi ini, mikroba tidak dapat membelah diri atau bereproduksi. Contohnya antara lain sulfonamid, tetrasiklin, kloramfenikol, dan eritromisin.<sup>55</sup>

#### b. Bakteriosida

Merujuk pada zat atau bahan yang bersifat mematikan bagi bakteri. Akibatnya, terjadi penurunan jumlah mikroba secara drastis hingga populasi yang tersisa tidak lagi mampu untuk berkembang biak. Contohnya adalah penisilin, sefalosporin, dan neomisin.<sup>56</sup>

## 2.7. Pilihan Antibiotik

### a. Vankomisin

Vankomisin diperkenalkan pertama kali 65 tahun lalu dan sampai saat ini masih menjadi obat utama untuk menangani infeksi yang disebabkan oleh *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Antibiotik ini

sudah lama digunakan karena keefektifannya melawan bakteri Gram-positif dan angka resistensinya yang masih rendah. Untuk infeksi MRSA seperti endokarditis dan bakteremia, vankomisin menjadi salah satu dari dua pilihan pengobatan standar selain daptomycin. Secara laboratorium, lebih dari 97% *S. aureus* masih terbukti sensitif terhadap vankomisin.<sup>57</sup> Namun, pengobatan MRSA yang berat tak jarang gagal meskipun hasil uji laboratorium terbukti bakterinya masih sensitif.<sup>58</sup> Masalah yang terjadi tidak hanya mengenai resistensi, tetapi juga cara kerja vankomisin dan bagaimana tubuh menyerap dan memproses obat. Pasien yang gagal ditangani dengan vankomisin juga ditemukan tidak berhasil saat menggunakan antibiotik lain setelahnya.<sup>57</sup> Selain itu, efek samping vankomisin dapat menyebabkan gangguan ginjal, sehingga penggunaan obat perlu dipantau.<sup>59</sup>

#### **b. Linezolid**

Selain vankomisin, linezolid juga digunakan sebagai pilihan antibiotik dalam pengobatan infeksi MRSA.<sup>60</sup> Berdasarkan studi sistematik dan meta-analisis di Mesir, tingkat resistensi MRSA terhadap linezolid hanya sebesar 5%, sedangkan terhadap vankomisin mencapai 9%. Hal ini menunjukkan bahwa linezolid masih cukup efektif terhadap isolat MRSA di wilayah tersebut.<sup>61</sup>

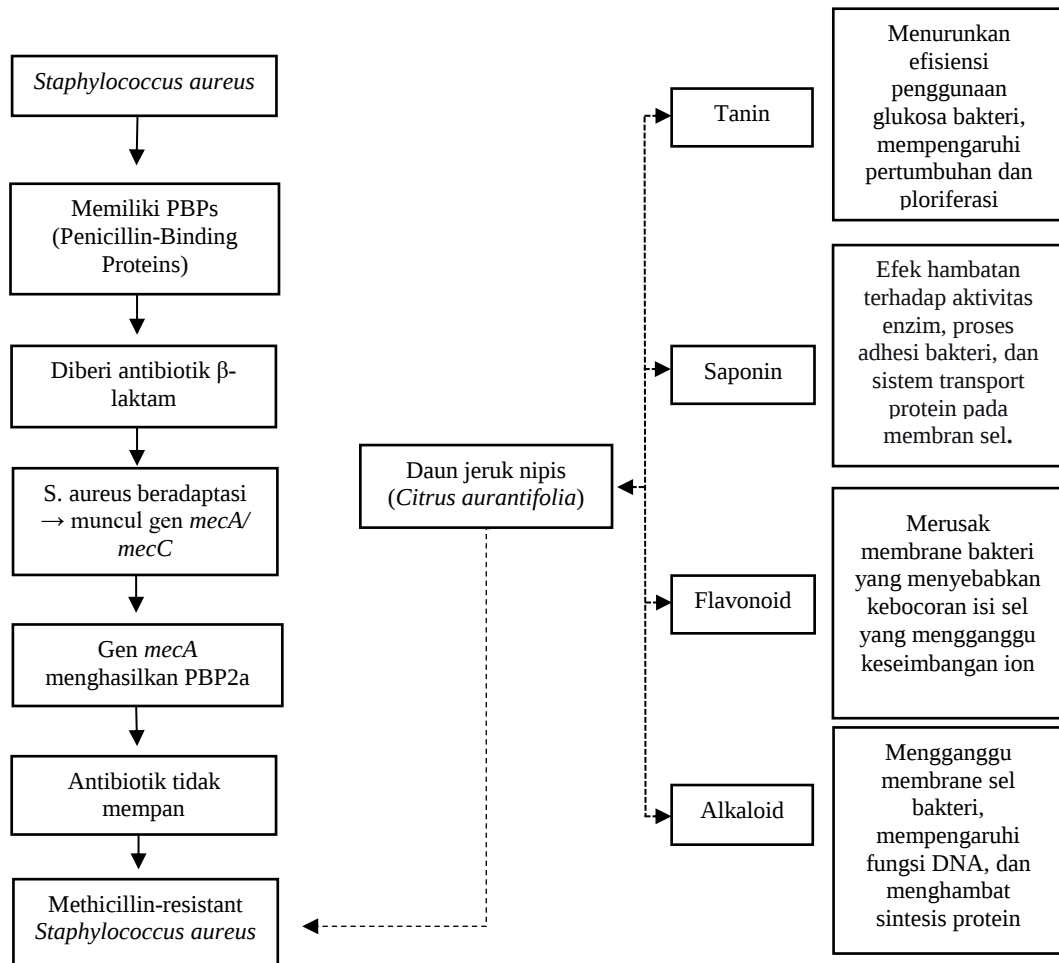
#### **c. Daptomycin**

Daptomycin merupakan salah satu pilihan antibiotik untuk mengobati infeksi MRSA.<sup>62</sup> Efektivitasnya bisa sebanding, bahkan dalam beberapa kasus lebih baik daripada vankomisin, terutama jika pasien tidak menunjukkan perbaikan setelah pengobatan awal. Berdasarkan penelitian oleh Schweizer et al., pasien yang diganti ke daptomycin dalam tiga hari pertama pengobatan menunjukkan angka kematian yang lebih rendah dibandingkan dengan pasien yang tetap menggunakan vankomisin. Meskipun begitu, vankomisin tetap menjadi pilihan awal yang paling sering digunakan karena harganya lebih murah dan sudah umum dipakai untuk MRSA.<sup>63</sup> Selain itu, ketersediaan obat, kebijakan rumah sakit, dan kehati-hatian dalam penggunaan antibiotik juga jadi alasan kenapa daptomycin tidak langsung digunakan sejak awal.<sup>64</sup>

## 2.8. Metode Difusi Cakram

Uji daya hambat dengan metode difusi cakram dilakukan dengan menempatkan kertas cakram berdiameter sekitar 6 mm yang telah dijenuhkan dengan senyawa uji pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Senyawa antimikroba kemudian akan berdifusi ke dalam media dan membentuk zona hambatan.<sup>56</sup> Prinsip dasar metode ini adalah mendeteksi tingkat kepekaan suatu mikroba terhadap suatu senyawa antimikroba berdasarkan kemampuan difusi senyawa tersebut dalam media padat yang telah ditanami mikroba.<sup>65</sup> Secara prosedural, cakram kertas yang mengandung zat antibakteri diletakkan di atas agar yang telah diinokulasi, lalu diinkubasi pada suhu dan waktu sesuai kondisi optimal pertumbuhan mikroba uji. Umumnya, hasil dapat diamati setelah inkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C. Metode ini memiliki beberapa keunggulan, di antaranya cepat, relatif murah, mudah dilakukan, dan tidak membutuhkan keterampilan khusus.<sup>56</sup> Namun, metode difusi cakram tidak dapat digunakan untuk menentukan Nilai Hambat Minimum (MIC) karena tidak memungkinkan untuk mengukur jumlah pasti senyawa antimikroba yang berdifusi ke dalam media.<sup>65</sup> Indikator adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya area bening (zona hambat) di sekeliling cakram, yang menggambarkan tingkat sensitivitas bakteri terhadap zat uji.<sup>6566</sup>

## 2.9. Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka Teori

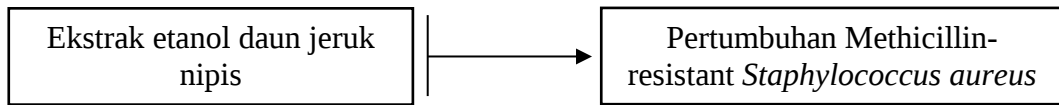
Keterangan:

————→ : Proses latar belakang

- - - - -→ : Menghambat

- - - - -→ : Hubungan komposisi

### 2.10. Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

### BAB 3

#### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

| Jenis variabel | Nama Variabel                                           | Definisi Operasional                                                                                                                                  | Cara Ukur                                                                                                                                       | Hasil Ukur                                         | Skala Ukur |
|----------------|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------|
| Independen     | Ekstrak daun jeruk nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) | Larutan ekstrak kental daun jeruk nipis hasil maserasi menggunakan alkohol 70%                                                                        | Ekstrak daun jeruk nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) dibuat menjadi 4 konsentrasi dengan menggunakan rumus $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ | Dibuat menjadi 4 konsentrasi (25%, 50%, 75%, 100%) | Ordinal    |
|                | Vankomisin                                              | Vankomisin digunakan sebagai kontrol positif terhadap MRSA, ditandai dengan munculnya zona hambat                                                     | Zona hambat diukur berdasarkan diameter zona hambat (mm)                                                                                        | Diameter zona hambat (mm)                          | Nominal    |
| Pendukung      | Kandungan Fitokimia daun jeruk nipis                    | Identifikasi senyawa aktif dalam daun jeruk nipis seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin menggunakan metode fitokimia                        | Uji fitokimia menggunakan pereaksi spesifik dengan mengamati adanya warna, endapan, dan busa                                                    | Positif / negatif                                  | Nominal    |
| Dependen       | Diameter zona hambat                                    | Diameter zona hambat bakteri yang diukur pada setiap kelompok menggunakan alat ukur jangka sorong dengan hasil dinyatakan dalam satuan milimeter (mm) | Diukur diameter zona hambat (mm) menggunakan jangka sorong                                                                                      | Diameter zona hambat (mm)                          | Rasio      |

### 3.2. Jenis dan Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang diterapkan adalah eksperimental secara *in vitro* dengan menggunakan rancangan *post-test only control group design*.

### 3.3. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara pada bulan Agustus-Oktober 2025.

### 3.4. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), sedangkan sampel penelitian ialah bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 yang diperoleh dari American Type Culture Collection melalui koleksi kultur Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

#### 3.4.1. Besar Sampel

Pada penelitian eksperimental ini menggunakan rumus Federer dalam menentukan minimal jumlah pengulangan yang dilakukan sehingga hasil yang didapatkan valid. Berikut perhitungan yang dilakukan:

Rumus Federer:  $(t - 1)(r - 1) \geq 15$

Keterangan:

- $t = 6$  kelompok perlakuan
- $r =$  jumlah ulangan pada tiap kelompok

Sehingga:

$$t = 6$$

Maka perhitungan sebagai berikut:

$$(6 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$5(r - 1) \geq 15$$

$$r - 1 \geq 3$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, maka jumlah pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali untuk masing-masing kelompok perlakuan.

Jadi, total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

6 kelompok  $\times$  4 kali pengulangan = 24 sampel. Dengan rincian sebagai berikut:

Kelompok 1: Vankomisin sebagai kontrol positif

Kelompok 2: Akuades sebagai kontrol negatif

Kelompok 3: Ekstrak etanol daun jeruk nipis 25%

Kelompok 4: Ekstrak etanol daun jeruk nipis 50%

Kelompok 5: Ekstrak etanol daun jeruk nipis 75%

Kelompok 6: Ekstrak etanol daun jeruk nipis 100%

### **3.5. Alat dan Bahan**

#### **3.5.1. Alat**

Peralatan yang dipersiapkan untuk penelitian ini meliputi cawan petri, disk kosong, labu ukur, erlenmeyer, gelas beaker, pipet ukur, bola hisap, neraca analitik, inkubator, autoklaf, sarung tangan, aluminium foil, oven, pembakar bunsen, kompor gas, kapas lidi steril, jangka sorong, tabung reaksi, rak tabung reaksi, blender, kertas saring, pinset.

#### **3.5.2. Bahan**

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini di antaranya adalah daun jeruk nipis yang diperoleh dari salah satu pasar tradisional yang berada di Medan, akuades, vankomisin. *Mueller-Hinton Agar* (MHA), strain MRSA yang diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi Universitas Sumatera Utara, etanol 70%, NaCl 0,9% (larutan garam fisiologis), larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1%, larutan  $\text{BaCl}_2$  1%, gliserin, karbopol, metilparaben, trietanolamin, Akuades, HCl 2%, reagen Dragendorff, reagen Mayer, serbuk Mg, kloroform, asam asetat anhidrat,  $\text{FeCl}_3$  1%.

### **3.6. Cara Kerja**

#### **3.6.1. Identifikasi Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)**

Identifikasi Daun jeruk nipis dilaksanakan di Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara untuk memastikan memverifikasi bahwa spesimen tumbuhan yang digunakan ialah daun jeruk nipis.

### 3.6.2. Pembuatan Simplisia Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Daun jeruk nipis yang digunakan adalah daun utuh, tidak berlubang, tidak sobek, dan berwarna hijau tua. Sebanyak 2000 gram daun segar dicuci dengan air bersih mengalir, proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan selama kurang lebih 3 hari hingga diperoleh simplisia kering. Kekeringan simplisia ditandai dengan tekstur yang rapuh dan mudah remuk ketika diremas. Simplisia kering kemudian dihaluskan menggunakan blender. Pada proses penghalusan, bagian yang keras seperti tulang daun yang tidak dapat halus dipisahkan dan tidak digunakan. Serbuk halus yang didapat kemudian diayak untuk memisahkan bagian yang tidak halus. Serbuk simplisia yang akan diekstrak ditimbang sebanyak 368 gram. Perhitungan rendemen simplisia dari daun segar ke serbuk kering adalah sebesar 18,4%.

### 3.6.3. Pembuatan Ekstrak Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi. Serbuk simplisia daun jeruk nipis sebanyak 368 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 3680 mL dengan perbandingan simplisia dan pelarut 7,5:2,5. Bagian pertama diekstraksi selama tiga hari dengan 2760 mL. Selanjutnya, hasil maserat disaring, dan residu ditambahkan dengan 920 mL. Campuran tersebut didiamkan selama sehari, dengan pengadukan dilakukan sekali setiap hari. Maserat yang terkumpul kemudian dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50 °C dengan kecepatan 200 rpm, lalu diuapkan lebih lanjut dengan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental.

### 3.6.4. Uji Fitokimia Senyawa Aktif Dalam Daun Jeruk Nipis

#### a. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan reagen Dragendorff, tampilan warna jingga mengkonfirmasi adanya alkaloid.

#### b. Uji Flavonoid

Tes flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk magnesium dan beberapa tetes konsentrasi asam klorida (HCl) pada ekstrak. Hasil positif jika menunjukkan warna merah bata.

### c. Uji Saponin

Tes saponin diuji dengan mengaduk ekstrak dengan air hangat, lalu ditambah dengan HCl 2N. Timbulnya busa yang stabil mengindikasikan saponin positif.

### d. Uji Tanin

Uji Tanin dilakukan dengan menambahkan FeCl<sub>3</sub> 5% pada ekstrak. Warna hitam kebiruan atau hijau gelap mengindikasikan adanya tanin.

### 3.6.5. Pembuatan Pengenceran Ekstrak (*Citrus aurantifolia*)

Ekstrak kental hasil maserasi dianggap sebagai ekstrak 100%. Untuk keperluan uji antibakteri, ekstrak akan diencerkan menggunakan DMSO 10% sebagai pelarut pembawa, hingga diperoleh konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Konsentrasi 100% digunakan langsung tanpa pengenceran. Pengenceran dilakukan berdasarkan rumus:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

di mana:

$M_1$  = konsentrasi ekstrak awal (100%)

$V_1$  = volume ekstrak yang diambil

$M_2$  = konsentrasi ekstrak yang diinginkan

$V_2$  = volume total larutan

Tabel 3.2 Tabel Pengenceran

| Konsentrasi ekstrak awal ( $M_1$ ) | Konsentrasi ( $M_2$ ) | Volume ekstrak ( $V_1$ ) | Volume total ( $V_2$ ) | Volume DMSO 10% | $V_1 \times 4$ |
|------------------------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|-----------------|----------------|
| 100%                               | 25%                   | 0,25 mL                  | 4 mL                   | 0,75 mL         | 1,00           |
| 100%                               | 50%                   | 0,5 mL                   | 4 mL                   | 0,5 mL          | 2,00           |
| 100%                               | 75%                   | 0,75 mL                  | 4 mL                   | 0,25 mL         | 3,00           |
| 100%                               | 100%                  | 1 mL                     | 4 mL                   | 0 mL            | 4,00           |

Tabel 3.3 Tabel Kontrol

| Kelompok                     | Volume sekali uji | Total Volume = $V \times 4$ |
|------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| Kontrol positif (Vankomisin) | 1 mL              | 5 mL                        |
| Kontrol negatif (Akuades)    | 1 mL              | 5 mL                        |

### 3.6.6. Identifikasi Bakteri MRSA

Identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara untuk memverifikasi bahwa isolat bakteri yang digunakan adalah *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Identifikasi Bakteri MRSA dilakukan dengan metode pewarnaan gram, dimana satu koloni bakteri diambil dengan ose steril lalu diletakkan di atas gelas objek yang telah ditetesi dua tetes akuades, kemudian diratakan. Sediaan bakteri yang terbentuk lalu difiksasi dengan panas di atas nyala bunsen. Tahap pertama, sediaan ditetesi Kristal violet secara merata selama 1 menit, lalu dibilas dengan akuades. Tahap kedua, ditetesi larutan Lugol's iodine selama 1 menit, lalu dibilas. Tahap ketiga, dilakukan pencucian (dekolorisasi) dengan alkohol-aseton hingga larutan yang menetes jernih. Tahap keempat, sediaan diberi safranin selama 1 menit dan dibilas. Sediaan hasil pewarnaan gram yang telah kering kemudian ditutup dengan kaca penutup dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x (minyak imersi).<sup>67</sup>

### 3.6.7. Pembuatan Suspensi Bakteri

Isolat yang digunakan adalah *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 yang diperoleh dari American Type Culture Collection melalui koleksi kultur Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sebanyak 1 ose koloni suspensi dari medium biakan diinokulasikan ke dalam larutan NaCl 0,9% yang terdapat dalam tabung reaksi dan dihomogenkan.

### 3.6.8. Uji Daya Hambat Dengan Metode Difusi Cakram

Sebelum uji daya hambat, disk kosong direndam selama 15 menit pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), larutan kontrol negatif dan kontrol positif. Sebagai kontrol negatif, disk direndam dalam akuades, sedangkan sebagai kontrol positif, disk direndam dalam larutan vankomisin 30 µg. Suspensi bakteri kemudian diinokulasikan secara merata ke Mueller-Hinton Agar (MHA) dengan menggunakan swab kapas steril. Keenam jenis cakram yang berisi: 1) vankomisin (30 µg); 2) akuades; 3) ekstrak etanol daun jeruk nipis 25%; 4) ekstrak etanol daun jeruk nipis 50%; 5) ekstrak etanol daun jeruk nipis 75%; dan 6) ekstrak etanol daun jeruk nipis 100%, kemudian

ditempelkan pada media MHA dengan jarak minimal 15 mm antar cakram dan ditekan perlahan menggunakan pinset. Cakram yang telah ditempelkan tidak boleh dipindahkan. Media kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C. Setelah masa inkubasi, area bening (zona hambat) yang terbentuk pada cawan petri diukur menggunakan jangka sorong.<sup>68</sup> Zona hambat yang dihasilkan akan diklasifikasikan menjadi tiga kategori, yaitu sensitif ( $\geq 18$  mm), intermediate (13–17 mm), dan resisten ( $\leq 12$  mm), (CLSI 2019).<sup>69</sup>

### 3.7. Pengolahan Data

Data yang diperoleh melalui pengukuran zona hambat setelah perlakuan pada keempat kelompok konsentrasi, kontrol positif, dan kontrol negatif, selanjutnya ditabulasikan dalam bentuk tabel dan dianalisis menggunakan software SPSS.

Tahapan analisis data dengan SPSS meliputi beberapa langkah, yaitu:

- a. *Editing*, yaitu kegiatan memeriksa dan memperbaiki data yang telah terkumpul.
- b. *Coding*, yaitu menerjemahkan data penelitian ke dalam bentuk simbol atau kode yang sesuai untuk memudahkan analisis
- c. *Data entry*, memasukan data ke dalam program SPSS.
- d. *Cleaning*, yaitu pengecekan ulang data dari setiap sumber data untuk melihat kemungkinan adanya ketidaklengkapan, kesalahan kode, dan kemudian dilakukan koreksi.

### 3.8. Analisis Data

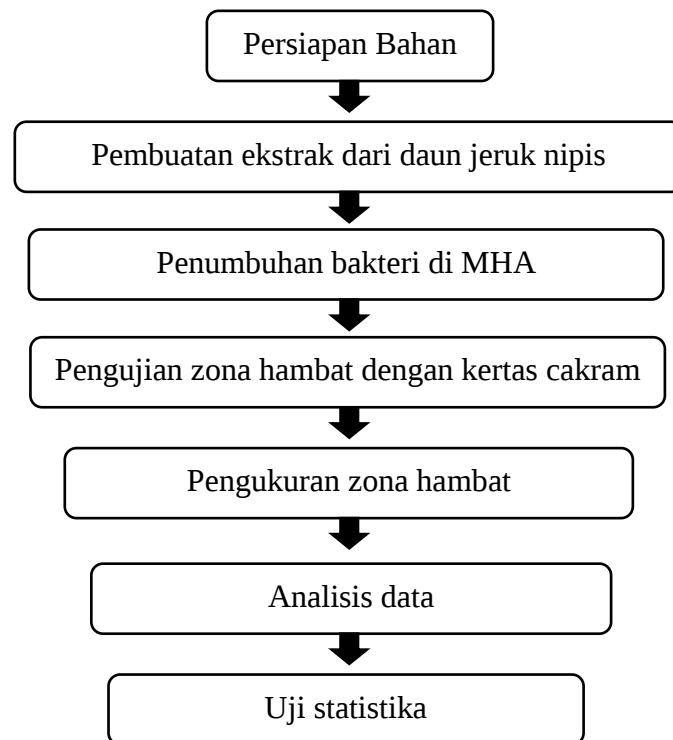
#### a. Analisis Univariat

Analisis univariat digunakan untuk mendeskripsikan karakteristik dari setiap variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas (berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% daun jeruk nipis) dan variabel terikat (zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA).

#### b. Analisis Bivariat

Analisis statistik yang akan diterapkan pada penelitian ini adalah uji parametrik One-Way ANOVA apabila asumsi normalitas data terpenuhi. Jika data tidak berdistribusi normal, maka akan digunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis.

### 3.9. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

##### 4.1.1. Hasil Uji Fitokimia Daun Jeruk Nipis

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa pada ekstrak daun *Citrus aurantifolia* (jeruk nipis).

Tabel 4.1 Hasil Uji fitokimia tanaman daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

| Senyawa Kimia | Hasil   | Keterangan                            |
|---------------|---------|---------------------------------------|
| Alkaloid      | Positif | Warna jingga                          |
| Flavonoid     | Positif | Warna merah bata                      |
| Tanin         | Positif | Warna hitam kebiruan atau hijau gelap |
| Saponin       | Positif | Busa                                  |

Berdasarkan Tabel 4.1, dari hasil Uji Fitokimia terdeteksi adanya senyawa golongan Alkaloid, Flavonoid, Tanin, dan Saponin dengan ditandai terbentuknya perubahan warna atau endapan yang sesuai dengan masing-masing pereaksi uji.

##### 4.1.2. Hasil Pengujian Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis Terhadap Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Hasil penilaian menunjukkan adanya zona hambat yang diameternya ditentukan dengan bantuan jangka sorong.

Tabel 4.2 Diameter zona hambat ekstrak daun jeruk nipis pada beberapa konsentrasi.

| Pengulangan | Konsentrasi |            |            |             | Vankomisin,<br>mm | Akuades,<br>mm |
|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------------|----------------|
|             | 25%,<br>mm  | 50%,<br>mm | 75%,<br>mm | 100%,<br>mm |                   |                |
| P 1         | 10,3        | 11,3       | 12,7       | 12,8        | 21,4              | 0              |
| P 2         | 10,3        | 12,3       | 12,6       | 11,8        | 20,7              | 0              |
| P 3         | 8,5         | 9,5        | 9,5        | 10,2        | 20,4              | 0              |
| P 4         | 8,6         | 16,75      | 9,1        | 10,0        | 20,6              | 0              |
| Rata-rata   | 9,43        | 12,46      | 10,98      | 11,2        | 20,78             | 0              |

Keterangan: mm = milimeter, P1 = Pengulangan 1, P2 = Pengulangan 2,

P3 = Pengulangan 3, P4 = Pengulangan 4

Pada tabel 4.2, hasil zona hambat yang dihasilkan setiap konsentrasi dan pengulangan bervariasi. Pada konsentrasi 25%,

zona hambat tertinggi pada pengulangan ke-1 dan ke-2 yaitu 10,3 mm. Pada konsentrasi 50%, zona hambat tertinggi diperoleh pada pengulangan ke-4 yaitu 16,75 mm. Pada konsentrasi 75%, pengulangan ke-1 menghasilkan zona tertinggi yaitu 12,7 mm, sedangkan pada konsentrasi 100%, zona hambat tertinggi pada pengulangan ke-1 yaitu 12,8 mm. Pada vankomisin menghasilkan zona hambat tertinggi pada pengulangan ke-1 yaitu 21,4 mm, sedangkan pada akuades tidak menghasilkan zona.

Tabel 4.3 Hasil uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dan uji homogenitas.

| Kelompok                      | Uji Shapiro-Wilk | Uji Homogenitas |
|-------------------------------|------------------|-----------------|
| Vankomisin                    | 0.310            |                 |
| Akuades                       | 0                |                 |
| Ekstrak daun jeruk nipis 25%  | 0.041            | 0.066           |
| Ekstrak daun jeruk nipis 50%  | 0.589            |                 |
| Ekstrak daun jeruk nipis 75%  | 0.086            |                 |
| Ekstrak daun jeruk nipis 100% | 0.408            |                 |

Pada Tabel 4.3, Hasil uji normalitas daun jeruk nipis pada konsentrasi 25% memiliki 0.041 ( $p=0.05$ ), untuk konsentrasi 50% sebesar 0.589 ( $p=0.05$ ), pada konsentrasi 75% sebesar 0.086 ( $p=0.05$ ), dan pada konsentrasi 100% memiliki nilai normalitas 0.408 ( $p=0.05$ ). Sedangkan pada vankomisin memiliki nilai 0.310 ( $p=0.05$ ) dan Akuades dengan nilai normalitas 0. Berdasarkan hasil uji normalitas pada tiap konsentrasi dijumpai bahwa konsentrasi 25% tidak berdistribusi normal. Selain itu, uji homogenitas menunjukkan nilai  $p$  sebesar 0.066, yang mengindikasikan varian tiap kelompok homogen. Dari hasil uji normalitas dan homogenitas yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi tidak normal dan antar kelompok memiliki homogenitas, sehingga syarat uji non-parametrik yaitu Kruskal-Wallis terpenuhi.

Tabel 4.4 Hasil uji Kruskal-Wallis

| Kelompok (konsentrasi)        | n  | Rata-rata | p     |
|-------------------------------|----|-----------|-------|
| Vankomisin                    | 4  | 22.50     | 0.004 |
| Akuades                       | 4  | 2.50      |       |
| Ekstrak daun jeruk nipis 25%  | 4  | 9.00      |       |
| Ekstrak daun jeruk nipis 50%  | 4  | 14.63     |       |
| Ekstrak daun jeruk nipis 75%  | 4  | 12.63     |       |
| Ekstrak daun jeruk nipis 100% | 4  | 13.75     |       |
| Total                         | 24 | -         |       |

Keterangan: n = jumlah sampel, p = nilai p

Tabel 4.4 menunjukkan rata-rata daya hambat ekstrak daun jeruk nipis pada berbagai konsentrasi yang bervariasi. Konsentrasi 50% memiliki rata-rata daya hambat tertinggi di antara kelompok ekstrak. Vankomisin menunjukkan rata-rata daya hambat paling tinggi, sedangkan Akuades menunjukkan nilai terendah. Hasil uji statistik Kruskal-Wallis menunjukkan nilai  $p = 0.004$  ( $p < 0.05$ ), yang mengindikasikan terdapat perbedaan yang bermakna pada daya hambat antar kelompok perlakuan. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan dengan uji lanjut *post-hoc* Mann-Whitney untuk menganalisis perbedaan antara setiap pasangan kelompok.

Tabel 4.5 menyajikan Hasil uji *Post-hoc* Mann-Whitney untuk setiap pasangan kelompok

| Kelompok                            | n | p     |
|-------------------------------------|---|-------|
| Vankomisin vs Akuades               | 4 | 0.014 |
| Vankomisin vs Konsentrasi 25%       | 4 | 0.020 |
| Vankomisin vs Konsentrasi 50%       | 4 | 0.021 |
| Vankomisin vs Konsentrasi 75%       | 4 | 0.021 |
| Vankomisin vs Konsentrasi 100%      | 4 | 0.021 |
| Akuades vs Konsentrasi 25%          | 4 | 0.013 |
| Akuades vs Konsentrasi 50%          | 4 | 0.014 |
| Akuades vs Konsentrasi 75%          | 4 | 0.014 |
| Akuades vs Konsentrasi 100%         | 4 | 0.014 |
| Konsentrasi 25% vs Konsentrasi 50%  | 4 | 0.081 |
| Konsentrasi 25% vs Konsentrasi 75%  | 4 | 0.245 |
| Konsentrasi 25% vs Konsentrasi 100% | 4 | 0.245 |
| Konsentrasi 50% vs Konsentrasi 75%  | 4 | 0.663 |
| Konsentrasi 50% vs Konsentrasi 100% | 4 | 0.773 |
| Konsentrasi 75% vs Konsentrasi 100% | 4 | 0.564 |

Keterangan: n = jumlah sampel, p = nilai p

Tabel 4.5 menunjukkan hasil uji *post-hoc* Mann-Whitney yang memberikan 2 temuan. Pada tabel, tidak ada perbedaan signifikan ( $p > 0.05$ ) antar semua konsentrasi ekstrak, hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi tidak meningkatkan daya hambat secara signifikan. Selain itu, semua konsentrasi ekstrak menunjukkan adanya perbedaan signifikan dengan akuades ( $p < 0.05$ ), sehingga mengkonfirmasi keberadaan aktivitas antibakteri pada ekstrak dan bukan pada pelarut. Vankomisin memiliki daya hambat yang signifikan lebih tinggi dari semua kelompok ekstrak ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2. Pembahasan Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian, terbukti adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun jeruk nipis yang ditandai dengan terbentuknya area bening (zona hambat) di sekeliling cakram. Zona hambat tersebut tampak sebagai area jernih tanpa pertumbuhan koloni bakteri pada media agar, yang mengindikasikan bahwa senyawa penghambat berasal dari bahan ekstrak, bukan dari pelarut. Sementara itu, vankomisin menghasilkan zona hambat yang lebih besar. Hal ini merupakan kondisi yang wajar mengingat vankomisin yang merupakan antibiotik murni bekerja dengan mekanisme yang spesifik dan potensinya yang tinggi. Meskipun diameter zona hambat ekstrak lebih kecil daripada vankomisin, terbentuknya zona bening telah mengonfirmasi adanya aktivitas penghambatan. Oleh sebab itu, diskusi dalam penelitian ini lebih berfokus pada konfirmasi aktivitas antibakteri dan karakteristik zona hambat ekstrak, bukan pada perbandingan potensinya dengan antibiotik murni.

Pengujian dilakukan terhadap ekstrak pada empat konsentrasi, yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%. Semua konsentrasi ekstrak mampu membentuk zona hambat, meskipun diameter yang dihasilkan berbeda-beda. Temuan ini mengonfirmasi aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jeruk nipis pada seluruh rentang konsentrasi yang diuji. Namun, peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu dibarengi dengan peningkatan diameter zona hambat.

Pengujian diulang untuk memperoleh nilai rata-rata zona hambat yang lebih akurat. Hasil pengamatan menunjukkan adanya variasi diameter zona hambat pada beberapa konsentrasi di antara pengulangan. Variasi ini diketahui dipengaruhi oleh

faktor teknis selama proses pengujian, seperti perbedaan tekanan saat penempelan cakram, variasi posisi cakram pada media agar, dan tingkat homogenitas ekstrak yang memengaruhi sebaran senyawa aktif.<sup>70</sup> Faktor teknis pada tahap inokulasi bakteri seperti keseragaman suspensi bakteri dan proses penyebarannya pada media juga dapat memengaruhi pembentukan zona hambat.<sup>71</sup> Oleh karena itu, variasi hasil antarpengulangan masih berada dalam batas yang dapat diterima secara metodologis, sekaligus membuktikan adanya pengaruh faktor teknis dalam metode difusi cakram.

Hasil pengujian yang didapat menunjukkan bahwa konsentrasi 50% menghasilkan diameter zona hambat yang lebih luas dibandingkan dengan konsentrasi 75% dan 100%. Kondisi ini menarik karena berdasarkan teori peningkatan konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis diharapkan dapat meningkatkan daya hambatnya.<sup>72</sup> Fenomena ini mengindikasikan bahwa konsentrasi tidak selalu berkorelasi positif dengan efektivitas antibakteri. Penyebabnya melibatkan faktor teknis dan sifat fisik ekstrak itu sendiri. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, peningkatan kadar ekstrak tidak selalu diikuti oleh peningkatan diameter zona hambat, karena metode difusi cakram sangat bergantung pada kemampuan senyawa aktif untuk berdifusi ke dalam media agar.<sup>73</sup> Pada ekstrak tanaman yang memiliki sifat kompleks, adanya keterbatasan difusi dapat membuat aktivitas antibakteri yang diamati menjadi lebih rendah meskipun kandungan senyawa aktif meningkat.<sup>73</sup> Oleh karena itu, pembentukan zona hambat pada konsentrasi tinggi dipengaruhi tidak hanya oleh konsentrasi senyawa aktif, tetapi juga oleh karakteristik fisik ekstrak dan laju difusinya.

Terbentuknya area hambatan dalam penelitian ini diduga kuat berkaitan dengan senyawa fitokimia yang teridentifikasi pada uji pendahuluan ekstrak daun jeruk nipis, yakni alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Alkaloid diketahui mampu menghalangi pertumbuhan bakteri dengan mengganggu biosintesis asam nukleat dan protein, menghambat siklus pembelahan sel, serta merusak struktur membran sel.<sup>2774</sup> Mekanisme kerja flavonoid meliputi kerusakan pada membran sel bakteri akibat interaksinya dengan fosfolipid penyusun membran, yang berakibat pada kebocoran isi sel.<sup>75</sup> Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat kerja enzim yang dimiliki bakteri, dan menghambat pembentukan biofilm.<sup>7677</sup> Tanin bekerja

dengan menghambat bakteri melalui menginaktivasi protein pada dinding dan membran sel, menghambat aktivitas enzim metabolik, dan mengganggu proses transport zat.<sup>787980</sup> Sementara itu, saponin berperan dengan cara berikatan langsung dengan komponen membran sel bakteri sehingga meningkatkan permeabilitasnya dan pada akhirnya mengakibatkan kerusakan struktural sel.<sup>818283</sup> Kombinasi dari berbagai mekanisme tersebut dapat mengganggu fungsi struktur dan metabolisme sel bakteri, yang akhirnya menghambat pertumbuhannya dan menyebabkan kematian sel.

Bentuk zona hambat yang tidak selalu bulat sempurna, seperti asimetris atau tidak beraturan, dapat dijelaskan oleh adanya faktor teknis serta sifat fisikokimia dari ekstrak. Beberapa faktor seperti ketidaktepatan penempatan cakram, kondisi permukaan media agar, serta keterbatasan difusi senyawa aktif yang bersifat hidrofobik dalam media agar yang berair dapat memengaruhi pola dan bentuk zona hambat yang terbentuk.<sup>84</sup> Temuan ini konsisten dengan laporan beberapa penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa penggunaan ekstrak tanaman sering menghasilkan variasi ukuran dan bentuk zona hambat karena karakteristik fisikokimianya.<sup>85</sup> Zona hambat yang asimetris serta variasi diameter yang terlihat, khususnya pada konsentrasi 50%, menunjukkan adanya keterbatasan metode difusi cakram ketika digunakan untuk ekstrak tumbuhan kasar. Metode difusi cakram yang dikembangkan untuk pengujian antibiotik yang bersifat hidrofilik kurang optimal untuk senyawa bersifat lipofilik seperti flavonoid dan tanin.<sup>86</sup> Selain itu, perbedaan laju difusi antar komponen dalam ekstrak menyebabkan distribusi senyawa antimikroba di sekitar cakram menjadi tidak merata, sehingga zona hambat yang terbentuk cenderung tidak beraturan.<sup>70</sup> Oleh karena itu, variasi bentuk dan ukuran zona hambat pada penelitian ini lebih tepat dipahami sebagai keterbatasan metode pengujian dan bukan sebagai indikator efektivitas ekstrak yang rendah.

Secara metodologis, penelitian ini menggunakan pendekatan yang serupa dengan penelitian Benredjem et al. (2023)<sup>87</sup>, termasuk dalam hal penggunaan DMSO 10% sebagai pelarut ekstrak dalam uji difusi cakram. Kesamaan metode ini mendukung eksperimental yang digunakan. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis dalam penelitian ini dengan diameter zona hambat berkisar antara

9,43–12,46 mm terhadap MRSA juga menunjukkan hal yang sejalan dengan temuan Benredjem et al. (2023), yang melaporkan zona hambat 16–22 mm terhadap *Staphylococcus aureus* yang resisten multidrug. Perbedaan nilai diameter zona hambat tersebut dapat dikarenakan perbedaan varietas tanaman, kondisi pertumbuhan, metode ekstraksi, serta strain bakteri uji yang digunakan.<sup>8889</sup>

Keterbatasan metode difusi cakram juga diperhatikan dalam interpretasi hasil penelitian ini karena metode ini dipengaruhi oleh kemampuan senyawa aktif untuk berdifusi secara merata ke dalam media agar.<sup>73</sup> Pada pengujian menggunakan ekstrak tumbuhan, proses difusi tidak hanya dipengaruhi oleh aktivitas antibakteri senyawa, tetapi juga oleh interaksi antara komponen ekstrak dengan medium agar selama pengujian.<sup>90</sup> Kondisi tersebut menyebabkan diameter zona hambat yang terbentuk tidak selalu menunjukkan kemampuan antibakteri ekstrak secara menyeluruh, melainkan lebih menggambarkan kemampuan senyawa dalam berdifusi pada kondisi pengujian. Oleh karena itu, hasil uji difusi cakram dalam penelitian ini lebih bersifat kualitatif hingga semi-kuantitatif.

Selain itu, variasi hasil juga dapat dipengaruhi oleh karakteristik ekstrak sebagai produk bahan alam.<sup>91</sup> Ekstrak daun jeruk nipis merupakan susunan dari berbagai senyawa dengan sifat fisikokimia yang berbeda.<sup>92</sup> Perbedaan kandungan dan proporsi senyawa aktif dapat dipengaruhi oleh kondisi bahan baku, proses ekstraksi, serta tingkat homogenitas ekstrak. Keberagaman komponen tersebut dapat menyebabkan variasi pola difusi dan bentuk zona hambat, sehingga respon antibakteri yang dihasilkan tidak selalu seragam.<sup>93</sup> Oleh karena itu, variasi hasil yang dijumpai dapat dilihat sebagai karakteristik alamiah ekstrak tanaman yang memang memiliki komposisi senyawa bioaktif yang beragam.<sup>94</sup>

Meskipun demikian, terbentuknya zona hambat pada seluruh konsentrasi ekstrak membuktikan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis aktif menghambat pertumbuhan MRSA. Mengingat MRSA merupakan bakteri resistensi tinggi terhadap berbagai antibiotik, temuan dalam studi ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun jeruk nipis berpotensi menjadi kandidat sumber senyawa antibakteri alami.<sup>95</sup> Namun, penemuan ini masih bersifat awal dan diperlukan penelitian lebih lanjut seperti *well diffusion* dan agar dilusi, serta identifikasi senyawa aktif untuk mengetahui komponen yang paling berperan.

Secara umum, analisis statistik mengungkapkan tidak adanya perbedaan yang bermakna secara statistik pada daya hambat antar berbagai konsentrasi ekstrak, yang berarti semua konsentrasi menunjukkan efektivitas antibakteri yang setara. Keberadaan zona hambat pada semua konsentrasi dan pengulangan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA. Maka dari itu, meskipun adanya variasi ukuran dan bentuk zona hambat akibat faktor teknis, keterbatasan metode, serta sifat ekstrak bahan alam, hasil penelitian ini tetap valid dan mendukung potensi daun jeruk nipis sebagai sumber senyawa antibakteri.

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

1. Ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada semua konsentrasi (25%, 50%, 75%, dan 100%).
2. Walaupun rata-rata zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 50% (12,46 mm), secara statistik tidak terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi, sehingga seluruh konsentrasi ekstrak menunjukkan efektivitas yang relatif sama dalam menghambat pertumbuhan MRSA.
3. Aktivitas ekstrak etanol daun jeruk nipis secara statistik menunjukkan nilai yang lebih rendah jika dibandingkan dengan Vankomisin yang berperan sebagai kontrol positif.

#### **5.2. Saran**

1. Studi lebih lanjut dapat diarahkan dengan menggunakan metode well diffusion atau agar dilusi untuk menghindari zona hambat yang ireguler dan memperoleh data yang memiliki tingkat akurasi lebih tinggi.
2. Penelitian lanjutan dapat dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif spesifik yang paling berperan terhadap *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C. Pathogens-10-01310-V2.Pdf. *Pathogens*. 2021;10(1310):1-14.
2. Walsh TR, Gales AC, Laxminarayan R, Dodd PC. Antimicrobial Resistance: Addressing a Global Threat to Humanity. *PLoS Med*. 2023;20(7 July):12-15. doi:10.1371/journal.pmed.1004264
3. Ho CS, Wong CTH, Aung TT, et al. Antimicrobial resistance: a concise update. *The Lancet Microbe*. 2025;6(1):1-14. doi:10.1016/j.lanmic.2024.07.010
4. Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, et al. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *J Infect Public Health*. 2021;14(12):1750-1766. doi:10.1016/j.jiph.2021.10.020
5. Collaborators AR. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. Published online 2024. doi:10.1016/S0140-6736(24)01867-1
6. Wulandari LPL, Khan M, Liverani M, et al. Prevalence and determinants of inappropriate antibiotic dispensing at private drug retail outlets in urban and rural areas of Indonesia: A mixed methods study. *BMJ Glob Heal*. 2021;6(8):1-11. doi:10.1136/bmjgh-2021-004993
7. Limato R, Lazarus G, Dernison P, et al. Optimizing antibiotic use in Indonesia: A systematic review and evidence synthesis to inform opportunities for intervention. *Lancet Reg Heal - Southeast Asia*. 2022;2(6). doi:10.1016/j.lansea.2022.05.002
8. Yunita SL, Yang HW, Chen YC, et al. Knowledge and practices related to antibiotic use among women in Malang, Indonesia. *Front Pharmacol*. 2022;13(October):1-11. doi:10.3389/fphar.2022.1019303
9. Fakta-fakta ini memperkuat perlunya pengembangan pengobatan alternatif non-antibiotik, seperti pemanfaatan tanaman obat, sebagai salah satu upaya untuk membantu mengatasi masalah resistensi yang semakin meluas. P. Plant-Derived Antimicrobials and Their Crucial Role in Combating Antimicrobial Resistance. *Antibiotics*. 2024;13(8). doi:10.3390/antibiotics13080746
10. van der Vaart TW, Prins JM, Soetekouw R, et al. All-Cause and Infection-Related Mortality in Staphylococcus aureus Bacteremia, a Multicenter Prospective Cohort Study. *Open Forum Infect Dis*. 2022;9(12):1-9. doi:10.1093/ofid/ofac653
11. Lam JC, Stokes W. The Golden Grapes of Wrath – Staphylococcus aureus Bacteremia: A Clinical Review. *Am J Med*. 2023;136(1):19-26. doi:10.1016/j.amjmed.2022.09.017
12. Shoaib M, Aqib AI, Muzammil I, et al. MRSA compendium of epidemiology, transmission, pathophysiology, treatment, and prevention within one health framework. *Front Microbiol*. 2023;13(January). doi:10.3389/fmicb.2022.1067284
13. Li J, Cheng F, Wei X, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA ): Resistance, Prevalence, and Coping Strategies. Published online

- 2025:1-19.
14. Bes TM, Soares RE, Ruedas Martins R, et al. Evaluating long-term MRSA colonization and household spread: Insights from a community-based study. *Brazilian J Infect Dis*. 2025;29(2):104518. doi:10.1016/j.bjid.2025.104518
  15. Hasanpour AH, Sepidarkish M, Mollalo A, et al. The global prevalence of *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* colonization in residents of elderly care centers: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2023;12(1):1-11. doi:10.1186/s13756-023-01210-6
  16. Hasmukharay K, Ngoi ST, Saedon NI, et al. Evaluation of *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteremia: Epidemiology, clinical characteristics, and outcomes in the older patients in a tertiary teaching hospital in Malaysia. *BMC Infect Dis*. 2023;23(1):1-11. doi:10.1186/s12879-023-08206-y
  17. Osok TMZ, Waworuntu OA, Homenta H, Sam U, Manado R. Identifikasi *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* pada Tenaga Kesehatan di Instalasi Gawat Darurat dan Rawat Inap Rumah Sakit Islam Sitti Maryam Manado. 2025;6(1):677-684.
  18. Widyastriana DMD, Cahyaningsih E, Wardani IGA. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tanaman Obat Terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Antibacterial Activity of Medicinal Plants Extract against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. *Usadha J Integr Obat Tradis*. 2021;1(1):30-37.
  19. Siddiqui AH, Koirala J. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Encycl Intensive Care Med*. Published online 2012:1394-1394. doi:10.1007/978-3-642-00418-6\_3203
  20. You T, Shi K. Monitoring of antimicrobial resistance in respiratory tract pathogens during the COVID-19 pandemic: A retrospective study. *Med (United States)*. 2024;103(19):E38101. doi:10.1097/MD.00000000000038101
  21. Seyedalinaghi S, Mehraeen E, Mirzapour P, Yarmohammadi S. A systematic review on natural products with antimicrobial potential against WHO ' s priority pathogens. Published online 2025.
  22. Xu S, Kang A, Tian Y, et al. Plant Flavonoids with Antimicrobial Activity against *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *ACS Infect Dis*. 2024;10(9):3086-3097. doi:10.1021/acsinfecdis.4c00292
  23. Azhar G, Ridwanto R, Nasution HM, Pulungan AF, Rani Z. Antibacterial Activity of Kaffir Lime Leaf (*Citrus hystrix* DC) Ethanol Extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Indones J Sci Pharm*. 2024;2(1):16-21. doi:10.63763/ijsp.v2i1.48
  24. Zakaria IH, Seumahu CA, Killay A. Uji Aktivitas Sediaan Spray Hand Sanitizer Kombinasi Ekstrak Daun Kemangi dan Daun Jeruk Nipis Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. *J Biosilampari J Biol*. 2022;4(2):87-96. doi:10.31540/biosilampari.v4i2.1514
  25. Perdana AA. Mikroenkapsulasi Minyak Daun Jeruk Nipis ( *Citrus aurantifolia* ) Dengan Matriks Maltodextrin Menggunakan Metode Freeze-Drying. [Skripsi]. Published online 2020.
  26. Ulvia R, Sari IP, Pratama NP. PENGARUH METODE EKSTRAKSI

- TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*). *J Ilm Farm Attamru*. 2024;5(2):100-113. doi:10.31102/attamru.2024.5.2.100-113
27. Yumei Yan 1, Xing Li 1, Chunhong Zhang 1, 2, 3, Lijuan Lv 4, Bing Gao 1, and Minhui Li 1, 2, 3 5. Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *Front Pharmacol*. 2022;13. doi:10.3389/fphar.2022.805986
  28. Agustina Y. Aktivitas antibakteri dan bioautografi fraksi ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap staphylococcus aureus. Published online 2020. <http://repository.ukwms.ac.id/id/eprint/23452/>
  29. Milk R. Antibacterial Properties of Leaves and Peels Extracts of *Citrus aurantifolia* cultivated in Algeria against Multi-Drug Resistant *Staphylococcus aureus* Originating from Raw Milk. *Trop J Nat Prod Res*. 2023;7(10). doi:10.26538/tjnpr/v7i10.20
  30. Sreepian A, Popruk S, Nutalai D, Phutthanu C, Sreepian PM. Antibacterial Activities and Synergistic Interaction of Citrus Essential Oils and Limonene with Gentamicin against Clinically Isolated *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. *Sci World J*. 2022;2022. doi:10.1155/2022/8418287
  31. Amini A, Safi S, Niazi H, Niazi S. The Effect of Soil Application and Foliar Sprays of Paclobutrazol at Various Concentrations on the Plant Morphology of Lime var. (*Citrus aurantifolia* L.). *Aust J Eng Innov Technol*. 2024;7804:122-130. doi:10.34104/ajeit.024.01220130
  32. Traband RC, Wang X, Lui J, et al. Exploring the Phylogenetic Relationship among Citrus through Leaf Shape Traits: A Morphological Study on Citrus Leaves. *Horticulturae*. 2023;9(7). doi:10.3390/horticulturae9070793
  33. Prasanna V, Madhavi M, Lakshmi LM, Rajasekharam T, Krishna KU. Assessment of variability in fruit , yield and biochemical characters of acid lime ( *Citrus aurantifolia* Swingle ) germplasm. 2023;12(5):4232-4238.
  34. F. N. U, V.N. O, F.E. A, N.K. A, A. K. O. Effects of *Citrus aurantifolia* Linn and *Xylopia aethopica* (Dunal) A. Rich Extracts on Leaf Blight Disease of Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott). *J Trop Crop Sci*. 2023;10(01):17-26. doi:10.29244/jtcs.10.1.17-26
  35. Indriyani NN, Anshori J Al, Permadi N, Nurjanah S, Julaeha E. Bioactive Components and Their Activities from Different Parts of *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle for Food Development. *Foods*. 2023;12(10). doi:10.3390/foods12102036
  36. NURUL MAWADDAH WARAHMAH. Pembuatan Sampo Anti Kutu Rambut Dari Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*). *J Al-Ulum*. 2021;12(90500120088):77-96.
  37. Pribadi FN. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Published online 2022. Accessed October 19, 2024.
  38. Shamsudin NF, Ahmed QU, Mahmood S, et al. Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation. *Molecules*. 2022;27(4). doi:10.3390/molecules27041149
  39. Hidayah H, Aryani W, Noordiansyah m alvian, Fathurrohman A, Putri MH, Widyaningsih A. Potensi tumbuhan jambalang (*Syzygium cumini* L.) sebagai antibakteri berdasarkan kandungan senyawa aktif: Literature Review

- Article. *J Pendidik dan Konseling*. 2022;4(3):1349-1358.
40. Raineri EJM, Altulea D, Van Dijn JM. Staphylococcal trafficking and infection - From “nose to gut” and back. *FEMS Microbiol Rev*. 2022;46(1):1-22. doi:10.1093/femsre/fuab041
  41. Touaitia R, Mairi A, Ibrahim NA, Basher NS, Idres T, Touati A. Staphylococcus aureus: A Review of the Pathogenesis and Virulence Mechanisms. *Antibiotics*. 2025;14(5):1-37. doi:10.3390/antibiotics14050470
  42. Pollitt EJG, Szkuta PT, Burns N, Foster SJ. Staphylococcus aureus infection dynamics. *PLoS Pathog*. 2023;14(6). doi:10.1371/journal.ppat.1007112
  43. Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. *Brock Biology Microorganism*. 14th ed. Pearson Benjamin Cummings; 2016.
  44. Azzahra TD, Nuryastuti T, Puspitasari I. Evaluasi Kesesuaian Penggunaan Antibiotik pada Pasien dengan Infeksi Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) di RSUD. Dr. Moewardi Surakarta. *Maj Farm*. 2021;17(1):15. doi:10.22146/farmaseutik.v16i2.48025
  45. Azzam A, Khaled H, Fayed HM, et al. Prevalence, antibiogram, and risk factors of *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) asymptomatic carriage in Africa: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2025;25(1). doi:10.1186/s12879-025-10819-4
  46. Maddiboyina B, Roy H, Ramaiah M, et al. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*: novel treatment approach breakthroughs. *Bull Natl Res Cent*. 2023;47(1). doi:10.1186/s42269-023-01072-3
  47. Dighriri IM, Alanazi S, AlMutairi K, et al. Efficacy and Safety of Vancomycin, Linezolid, and Ceftaroline in the Treatment of *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA): A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cureus*. 2025;17(1):1-14. doi:10.7759/cureus.77949
  48. Selim S. Mechanisms of gram-positive vancomycin resistance (Review). *Biomed Reports*. 2022;16(1). doi:10.3892/br.2021.1490
  49. Pasquina-Lemonche L, Burns J, Turner RD, Kumar S, Tank R. Europe PMC Funders Group The Architecture of the Gram Positive Bacterial Cell Wall. *Nature*. 2020;582(7811):294-297. doi:10.1038/s41586-020-2236-6
  50. Lade H, Kim JS. Molecular Determinants of  $\beta$  -Lactam Resistance in. *Antibiotics*. 2023;12(1362).
  51. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal MAP. *Medical Microbiology*.; 2016.
  52. Halawa EM, Fadel M, Al-Rabia MW, et al. Antibiotic action and resistance: updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Front Pharmacol*. 2023;14(January):1-17. doi:10.3389/fphar.2023.1305294
  53. Barreiro C, Albillos SM, García-Estrada C. Penicillium chrysogenum: Beyond the penicillin. *Adv Appl Microbiol*. 2024;127:143-221. doi:10.1016/bs.aambs.2024.02.006
  54. Gerard, Gerard, T., Berdell, F., & Christine C (2010). MTT, Berdell F, Christine C. *Microbiology Tortora*.; 2016.
  55. Pormohammad A, Hansen D, Turner RJ. Antibacterial, Antibiofilm, and Antioxidant Activity of 15 Different Plant-Based Natural Compounds in Comparison with Ciprofloxacin and Gentamicin. *Antibiotics*. 2022;11(8). doi:10.3390/antibiotics11081099

56. FISMA IY. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta Indica* A. Juss) TERHADAP *Pseudomonas Aeruginosa*. *Pharmacogn Mag*. 2021;75(17):399-405.
57. Rose W, Volk C, Dilworth TJ, Sakoulas G. Approaching 65 Years: Is It Time to Consider Retirement of Vancomycin for Treating *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* Endovascular Infections? *Open Forum Infect Dis*. 2022;9(5):1-6. doi:10.1093/ofid/ofac137
58. Muriel CM, García-Goez JF, Ortega D, Martínez D, Rosselli D. Risk factors for therapeutic failure in adults with *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) infection treated with vancomycin in a high-complexity hospital in Cali, Colombia. *Infez Med*. 2024;32(1):45-51. doi:10.53854/liim-3201-6
59. Altowayan WM, Mobark MA, ALharbi A, Alduhami AA, Rabbani SI. The influence of vancomycin on renal functions, the predictors and associated factors for nephrotoxicity. *PLoS One*. 2023;18(4 April):1-12. doi:10.1371/journal.pone.0284223
60. Feng J, Xiang F, Cheng J, Gou Y, Li J. Comparative Efficacy and Safety of Vancomycin, Linezolid, Tedizolid, and Daptomycin in Treating Patients with Suspected or Proven Complicated Skin and Soft Tissue Infections: An Updated Network Meta-Analysis. *Infect Dis Ther*. 2021;10(3):1531-1547. doi:10.1007/s40121-021-00456-0
61. Azzam A, Khaled H, Mosa M, et al. Epidemiology of clinically isolated *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) and its susceptibility to linezolid and vancomycin in Egypt: a systematic review with meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2023;23(1):1-15. doi:10.1186/s12879-023-08202-2
62. Maraolo AE, Giaccone A, Gentile I, Saracino A, Bavaro DF. Daptomycin versus vancomycin for the treatment of *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* bloodstream infection with or without endocarditis: A systematic review and meta-analysis. *Antibiotics*. 2021;10(8). doi:10.3390/antibiotics10081014
63. Schweizer ML, Richardson K, Vaughan Sarrazin MS, et al. Comparative effectiveness of switching to daptomycin versus remaining on vancomycin among patients with *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) bloodstream infections. *Clin Infect Dis*. 2021;72(152):S68-S73. doi:10.1093/cid/ciaa1572
64. Adamu Y, Puig-Asensio M, Dabo B, Schweizer ML. Comparative effectiveness of daptomycin versus vancomycin among patients with *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) bloodstream infections: A systematic literature review and meta-analysis. *PLoS One*. 2024;19(2 February):1-20. doi:10.1371/journal.pone.0293423
65. Hasanah SN. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAUN BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L) MENGGUNAKAN METODE ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION TERHADAP BAKTERI *Streptococcus pyogenes* SECARA IN VITRO. *Skripsi Fak Kedokt Univ Lampung Bandar Lampung*. Published online 2023:1-67. [http://digilib.unila.ac.id/71738/3/SKRIPSI\\_TANPA\\_PEMBAHASAN\\_SITI\\_NUR\\_HASANAH.pdf](http://digilib.unila.ac.id/71738/3/SKRIPSI_TANPA_PEMBAHASAN_SITI_NUR_HASANAH.pdf)

66. Arni VZ. Uji EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* Linn) TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes* PENYEBAB JERAWAT. Published online 2024:1-76.
67. Journal T, Muhammadiyah O. Prevalensi Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ( MRSA ) Pada Peralatan Laboratorium. 2021;2(4).
68. Dewi CIDY, Ernawati DK, Widhiartini IAA. Uji EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN METHICILLIN RESISTANT *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO. *E-Jurnal Med Udayana*. 2021;10(2):79. doi:10.24843/mu.2021.v10.i2.p15
69. Pratiwi I, Lindawati NY, Murtisiwi L. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia* (Chrism. & Panz.) Swingle.) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *J Farm (Journal Pharmacy)*. 2021;2(1):1-6.
70. Hossain TJ. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity : A review of protocols , advantages , and limitations. Published online 2024. doi:10.1556/1886.2024.00035
71. Ast S, Health O. Antimicrobial susceptibility Antimicrobial susceptibility testing. Published online 2025.
72. Cymbopogon W, Jeruk D, Citrus N. Antibacterial Activity Test of the Combination of Citronella Leaf Extract (*Cymbopogon nardus* L .) and Lime Leaf Extract (*Citrus aurantifolia* Swingle) Against the Growth of *Streptococcus mutans*. 2025;4(2):694-706.
73. Bubonja-šonje M, Knežević S, Abram M. Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant- derived polyphenolic compounds. Published online 2020:300-311. doi:10.2478/aiht-2020-71-3396
74. Kifayat S, Yele V, Ashames A. RSC Advances Filamentous temperature sensitive mutant Z : a putative target to combat antibacterial resistance. Published online 2023:11368-11384. doi:10.1039/d3ra00013c
75. Angellotti G, Tixier A sylvie F, Pagliaro M. Citrus Flavonoids as Antimicrobials. Published online 2025. doi:10.1002/cbdv.202403210
76. Yuan G, Guan Y, Yi H, Lai S, Sun Y, Cao S. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram - positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Sci Rep*. 2021;(0123456789):1-15. doi:10.1038/s41598-021-90035-7
77. Liu Y, Zhu J, Liu Z, Zhi Y, Mei C. Flavonoids as Promising Natural Compounds for Combating Bacterial Infections. Published online 2025:1-20.
78. Xu H, Gong L, Guo Y. Integrated transcriptomics and metabolomics reveal multi - target mechanisms of tannins against *Clostridium perfringens* and necrotic enteritis. 2025;3:1-18.
79. Pometia L. Jurnal Ilmiah Biologi UMA ( JIBIOMA ). 2025;7(1):1-13. doi:10.31289/jibioma.v7i1.5919
80. Caries D. Antibacterial Activity of Plant Polyphenols Belonging to the Tannins against *Streptococcus mutans* — Potential against. Published online 2024.
81. Li J, Monje-galvan V. In Vitro and In Silico Studies of Antimicrobial

- Saponins : A Review. Published online 2023.
82. Putri II, Chatri M, Biologi D, Matematika F, Alam P. Peranan Metabolit Sekunder sebagai Antimikroba. 2024;8:15933-15940.
  83. Abadi MJ, Nasution SW, Sartika D. ARTIKEL PENELITIAN Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Infusa Kulit Jeruk Manis (Citrus Sinensis) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. 2025;6(3).
  84. Puxeddu S, Canton S, Scano A, et al. Beyond One-Size-Fits-All : Addressing Methodological Constraints in Novel Antimicrobials Discovery. Published online 2025:1-18.
  85. Anredera B, Dan C, Cina S. Jurnal Inovasi Kesehatan Terkini Jurnal Inovasi Kesehatan Terkini. 2025;7(2):135-145.
  86. Eloff JN. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. 2019;3:1-8.
  87. Benredjem L. Antibacterial Properties of Leaves and Peels Extracts of *Citrus aurantifolia* cultivated in Algeria against Multi-Drug Resistant *Staphylococcus aureus* Originating from Raw Milk. *Trop J Nat Prod Res*. 2023;7(10 SE-Articles):4256-4261.
  88. Putri TI, Sofya SW, Yulia B, Pratiwi H. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) Terhadap *Bacillus cereus*. 2025;9(8).
  89. Zaki SH, Selim DA, Khalifa N, Aasy A. Evaluation of the antibacterial potential in shoot and root extracts of *Eryngium campestre* with emphasis on Egyptian ecotype. Published online 2025:1-14.
  90. Gonzalez-pastor R, Carrera-pacheco SE, Johana Z, Rodr C, Mayorga-ramos A, Barba-ostria C. Current Landscape of Methods to Evaluate Antimicrobial Activity of Natural Extracts. Published online 2023.
  91. Res IJA. Manuscript Info Abstract ISSN : 2320-5407 Introduction : - Materials and methods : -. 4(8):1574-1579. doi:10.21474/IJAR01/1364
  92. Subhashini SU, Pearl AJ. ISSN : 0970-2091 Phytochemical screening of *Citrus aurantifolia* leaf extract. 2025;40(21213162032022):1839-1844.
  93. Sun S, Yu Y, Jo Y, et al. Impact of extraction techniques on phytochemical composition and bioactivity of natural product mixtures. 2025;(July):1-14. doi:10.3389/fphar.2025.1615338
  94. Kanarek P, Breza-boruta B, Stocki M. Antimicrobial Activity and Phytochemical Profiling of Natural Plant Extracts for Biological Control of Wash Water in the Agri-Food Industry. Published online 2025:1-20.
  95. Arabia S. Antibiotic susceptibility of methicillin-resistant. 2024;(March):1-6.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1 *Ethical Clearance*



**UMSU**  
Kingship | Center | Transformation

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA  
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL  
"ETHICAL APPROVAL"  
No : 1599/KEPK/FKUMSU/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :  
*The Research protocol proposed by*

Peneliti Utama : Dhea Agustina  
*Principal in investigator*

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara  
*Name of the Institution Faculty of Medicine University of Muhammadiyah of Sumatera Utara*

Dengan Judul  
*Title*

**"UJI IN VITRO AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)"**

**"IN VITRO TEST OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT FROM LIME (*Citrus aurantifolia*) LEAVES AGAINST *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) GROWTH"**

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah  
3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan  
7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

*Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard*

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 28 Agustus 2025 sampai dengan tanggal 28 Agustus 2026  
*The declaration of ethics applies during the periode August 28, 2025 until August 28 , 2026*



Medan, 28 Agustus 2025  
Ketua  
*[Signature]*  
Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

## Lampiran 2 Surat Izin Penelitian



**UMSU**  
Unggul | Cerdas | Terpercaya

Bila menjabat surat ini agar disebutkan nomor dan tanggalnya.

MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN & PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**

UMSU Terakreditasi Unggul Berdasarkan Keputusan Badan Akreditasi Nasional Perguruan Tinggi No. 174/SK/BAN-PT/Ak.Pp/PT/III/2024

Jl. Gedung Arca No. 53 Medan, 20217 Telp. (061) - 7350163, 7333162, Fax. (061) - 7363488

<https://fk.umsu.ac.id> [fk@umsu.ac.id](mailto:fk@umsu.ac.id) [umsu.ac.id](#) [umsu.ac.id](#) [umsu.ac.id](#) [umsu.ac.id](#) [umsu.ac.id](#)

Nomor : 1456/II.3.AU/UMSU-08/F/2025  
Lampiran : -  
Perihal : Peminjaman Tempat Penelitian

Medan, 15 Rabi'ul Awal 1447 H  
08 September 2025 M

Kepada Yth.

1. Kepala Bagian Lab Mikrobiologi
  2. Kepala Bagian Lab Biokimia
- Fakultas Kedokteran UMSU  
di-  
Tempat

*Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Sehubungan dengan surat permohonan peminjaman tempat untuk melakukan penelitian pada Laboratorium di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, yaitu:

Nama : Dhea Agustina  
NPM : 2208260033  
Judul Penelitian : Uji In Vitro Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)

maka kami memberikan izin kepada yang bersangkutan, untuk melakukan penelitian di Lab Mikrobiologi, dan Lab Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Selama proses pemakaian laboratorium, jika terdapat pemakaian alat yang rusak maka akan menjadi tanggungjawab peneliti dan pemakaian Bahan Habis Pakai (BHP) ditanggung oleh peneliti. Peneliti wajib mengikuti peraturan yang berlaku di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian kami ucapkan terima kasih.

*Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*



dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THTBKL, Subsp.Rino(K)  
NIDN: 0106098201

Tembusan Yth :

1. Ad hoc KTI Mahasiswa FK UMSU
2. Pertinggal



### Lampiran 3 Identifikasi Tanaman



**LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN  
HERBARIUM MEDANENSE  
(MEDA)**

**UNIVERSITAS SUMATERA UTARA**

Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155  
Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail. [nursaharapasaribu@yahoo.com](mailto:nursaharapasaribu@yahoo.com)

Medan, 13 Januari 2026

No : 08/MEDA/2026  
Lamp. : -  
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada Yth.

Sdr/I : Dhea Agustina  
NIM : 2208260033  
Instansi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledonae  
Ordo : Rutales  
Famili : Rutaceae  
Genus : Citrus  
Spesies : *Citrus aurantifolia* L.  
Nama lokal : Daun jeruk nipis

Demikian, semoga berguna bagi saudara.



Kepala Herbarium Medanense.

Prof. Dr. Eti Sartina Siregar, S.Si., M.Si.  
NIP. 197211211998022001

### Lampiran 4 Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Pemilihan daun



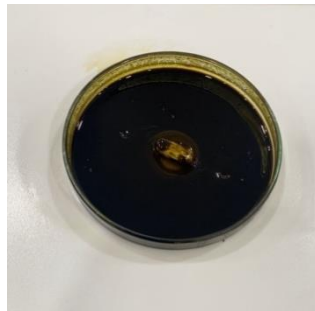
Pengeringan daun



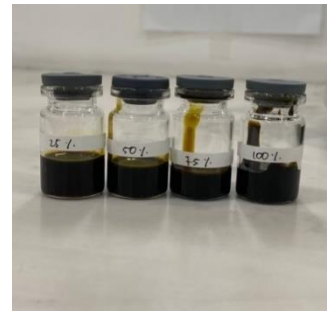
Penimbangan daun



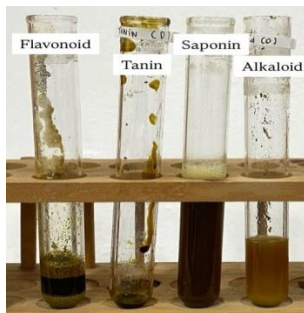
Maserasi



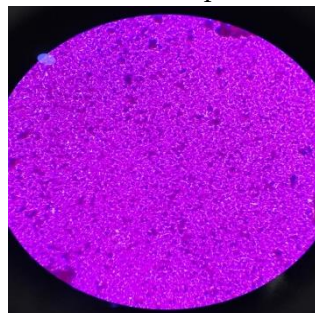
Proses *Hot plate*



Pengenceran



Uji Fitokimia



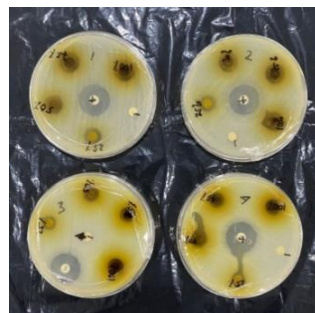
Pewarnaan Gram



Identifikasi Bakteri



Uji Antibakteri



Hasil Inkubasi



Pengukuran Zona

## Lampiran 5 Data Statistik SPSS

### Uji Normalitas

#### Tests of Normality

|             |                  | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|-------------|------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| Konsentrasi |                  | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| Hasil       | Kontrol (+)      | .318                            | 4  | .    | .873         | 4  | .310 |
|             | Kontrol (-)      | .                               | 4  | .    | .            | 4  | .    |
|             | Konsentrasi 25%  | .307                            | 4  | .    | .753         | 4  | .041 |
|             | Konsentrasi 50%  | .271                            | 4  | .    | .929         | 4  | .589 |
|             | Konsentrasi 75%  | .299                            | 4  | .    | .791         | 4  | .086 |
|             | Konsentrasi 100% | .273                            | 4  | .    | .895         | 4  | .408 |

a. Lilliefors Significance Correction

#### Descriptives

| Konsentrasi |                 | Statistic                        |             | Std. Error |
|-------------|-----------------|----------------------------------|-------------|------------|
| Hasil       | Kontrol (+)     | Mean                             | 20.7750     | .21747     |
|             |                 | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 20.0829    |
|             |                 |                                  | Upper Bound | 21.4671    |
|             |                 | 5% Trimmed Mean                  | 20.7611     |            |
|             |                 | Median                           | 20.6500     |            |
|             |                 | Variance                         | .189        |            |
|             |                 | Std. Deviation                   | .43493      |            |
|             |                 | Minimum                          | 20.40       |            |
|             |                 | Maximum                          | 21.40       |            |
|             |                 | Range                            | 1.00        |            |
|             |                 | Interquartile Range              | .77         |            |
|             |                 | Skewness                         | 1.504       | 1.014      |
|             |                 | Kurtosis                         | 2.646       | 2.619      |
|             | Kontrol (-)     | Mean                             | .0000       | .00000     |
|             |                 | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | .0000      |
|             |                 |                                  | Upper Bound | .0000      |
|             |                 | 5% Trimmed Mean                  | .0000       |            |
|             |                 | Median                           | .0000       |            |
|             |                 | Variance                         | .000        |            |
|             |                 | Std. Deviation                   | .00000      |            |
|             |                 | Minimum                          | .00         |            |
|             |                 | Maximum                          | .00         |            |
|             |                 | Range                            | .00         |            |
|             |                 | Interquartile Range              | .00         |            |
|             |                 | Skewness                         | .           | .          |
|             |                 | Kurtosis                         | .           | .          |
|             | Konsentrasi 25% | Mean                             | 9.4250      | .50559     |
|             |                 | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 7.8160     |
|             |                 |                                  | Upper Bound | 11.0340    |
|             |                 | 5% Trimmed Mean                  | 9.4278      |            |
|             |                 | Median                           | 9.4500      |            |
|             |                 | Variance                         | 1.023       |            |
|             |                 | Std. Deviation                   | 1.01119     |            |
|             |                 | Minimum                          | 8.50        |            |
|             |                 | Maximum                          | 10.30       |            |
|             |                 | Range                            | 1.80        |            |
|             |                 | Interquartile Range              | 1.78        |            |
|             |                 | Skewness                         | -.008       | 1.014      |
|             |                 | Kurtosis                         | -5.951      | 2.619      |

|                  |                                  |             |         |         |
|------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| Konsentrasi 50%  | Mean                             |             | 12.4625 | 1.54210 |
|                  | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 7.5548  |         |
|                  |                                  | Upper Bound | 17.3702 |         |
|                  | 5% Trimmed Mean                  |             | 12.3889 |         |
|                  | Median                           |             | 11.8000 |         |
|                  | Variance                         |             | 9.512   |         |
|                  | Std. Deviation                   |             | 3.08420 |         |
|                  | Minimum                          |             | 9.50    |         |
|                  | Maximum                          |             | 16.75   |         |
|                  | Range                            |             | 7.25    |         |
|                  | Interquartile Range              |             | 5.69    |         |
|                  | Skewness                         |             | 1.164   | 1.014   |
|                  | Kurtosis                         |             | 1.854   | 2.619   |
| Konsentrasi 75%  | Mean                             |             | 10.9750 | .97072  |
|                  | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 7.8857  |         |
|                  |                                  | Upper Bound | 14.0643 |         |
|                  | 5% Trimmed Mean                  |             | 10.9833 |         |
|                  | Median                           |             | 11.0500 |         |
|                  | Variance                         |             | 3.769   |         |
|                  | Std. Deviation                   |             | 1.94143 |         |
|                  | Minimum                          |             | 9.10    |         |
|                  | Maximum                          |             | 12.70   |         |
|                  | Range                            |             | 3.60    |         |
|                  | Interquartile Range              |             | 3.47    |         |
|                  | Skewness                         |             | -.034   | 1.014   |
|                  | Kurtosis                         |             | -5.776  | 2.619   |
| Konsentrasi 100% | Mean                             |             | 11.2000 | .66833  |
|                  | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 9.0731  |         |
|                  |                                  | Upper Bound | 13.3269 |         |
|                  | 5% Trimmed Mean                  |             | 11.1778 |         |
|                  | Median                           |             | 11.0000 |         |
|                  | Variance                         |             | 1.787   |         |
|                  | Std. Deviation                   |             | 1.33666 |         |
|                  | Minimum                          |             | 10.00   |         |
|                  | Maximum                          |             | 12.80   |         |
|                  | Range                            |             | 2.80    |         |
|                  | Interquartile Range              |             | 2.50    |         |
|                  | Skewness                         |             | .442    | 1.014   |
|                  | Kurtosis                         |             | -3.312  | 2.619   |

### Uji Homogenitas

#### Tests of Homogeneity of Variances

|       |                                      | Levene Statistic | df1 | df2   | Sig. |
|-------|--------------------------------------|------------------|-----|-------|------|
| Hasil | Based on Mean                        | 4.291            | 5   | 18    | .010 |
|       | Based on Median                      | 3.136            | 5   | 18    | .033 |
|       | Based on Median and with adjusted df | 3.136            | 5   | 3.517 | .164 |
|       | Based on trimmed mean                | 3.955            | 5   | 18    | .014 |

### Uji Kruskal-Wallis

#### Ranks

|       | Konsentrasi      | N  | Mean Rank |
|-------|------------------|----|-----------|
| Hasil | Kontrol (+)      | 4  | 22.50     |
|       | Kontrol (-)      | 4  | 2.50      |
|       | Konsentrasi 25%  | 4  | 9.00      |
|       | Konsentrasi 50%  | 4  | 14.63     |
|       | Konsentrasi 75%  | 4  | 12.63     |
|       | Konsentrasi 100% | 4  | 13.75     |
|       | Total            | 24 |           |

#### Test Statistics<sup>a,b</sup>

| Hasil            |        |
|------------------|--------|
| Kruskal-Wallis H | 17.559 |
| df               | 5      |
| Asymp. Sig.      | .004   |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
Konsentrasi

### Uji Mann-Whitney

Kontrol positif dengan kontrol negatif

#### Ranks

|       | Konsentrasi | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (+) | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Kontrol (-) | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Total       | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

| Hasil                          |                   |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.460            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .014              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Kontrol positif dengan konsentrasi 25%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (+)     | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Konsentrasi 25% | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.323            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .020              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Kontrol positif dengan konsentrasi 50%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (+)     | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Konsentrasi 50% | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.309            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .021              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Kontrol positif dengan konsentrasi 75%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (+)     | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Konsentrasi 75% | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.309            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .021              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Kontrol positif dengan konsentrasi 100%

#### Ranks

|       | Konsentrasi      | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|------------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (+)      | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Konsentrasi 100% | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Total            | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.309            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .021              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Kontrol negatif dengan konsentrasi 25%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (-)     | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Konsentrasi 25% | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.477            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .013              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Kontrol negatif dengan konsentrasi 50%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (-)     | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Konsentrasi 50% | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.460            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .014              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Kontrol negatif dengan konsentrasi 75%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (-)     | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Konsentrasi 75% | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.460            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .014              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Kontrol negatif dengan konsentrasi 100%

#### Ranks

|       | Konsentrasi      | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|------------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Kontrol (-)      | 4 | 2.50      | 10.00        |
|       | Konsentrasi 100% | 4 | 6.50      | 26.00        |
|       | Total            | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 10.000            |
| Z                              | -2.460            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .014              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .029 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Konsentrasi 25% dengan Konsentrasi 50%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Konsentrasi 25% | 4 | 3.00      | 12.00        |
|       | Konsentrasi 50% | 4 | 6.00      | 24.00        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | 2.000             |
| Wilcoxon W                     | 12.000            |
| Z                              | -1.742            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .081              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .114 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Konsentrasi 25% dengan Konsentrasi 75%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Konsentrasi 25% | 4 | 3.50      | 14.00        |
|       | Konsentrasi 75% | 4 | 5.50      | 22.00        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | 4.000             |
| Wilcoxon W                     | 14.000            |
| Z                              | -1.162            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .245              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .343 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Konsentrasi 25% dengan Konsentrasi 100%

#### Ranks

|       | Konsentrasi      | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|------------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Konsentrasi 25%  | 4 | 3.50      | 14.00        |
|       | Konsentrasi 100% | 4 | 5.50      | 22.00        |
|       | Total            | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | 4.000             |
| Wilcoxon W                     | 14.000            |
| Z                              | -1.162            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .245              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .343 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Konsentrasi 50% dengan Konsentrasi 75%

#### Ranks

|       | Konsentrasi     | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|-----------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Konsentrasi 50% | 4 | 4.88      | 19.50        |
|       | Konsentrasi 75% | 4 | 4.13      | 16.50        |
|       | Total           | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | 6.500             |
| Wilcoxon W                     | 16.500            |
| Z                              | -.436             |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .663              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .686 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Konsentrasi 50% dengan Konsentrasi 100%

#### Ranks

|       | Konsentrasi      | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|------------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Konsentrasi 50%  | 4 | 4.75      | 19.00        |
|       | Konsentrasi 100% | 4 | 4.25      | 17.00        |
|       | Total            | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | 7.000             |
| Wilcoxon W                     | 17.000            |
| Z                              | -.289             |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .773              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .886 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

### Konsentrasi 75% dengan Konsentrasi 100%

#### Ranks

|       | Konsentrasi      | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------|------------------|---|-----------|--------------|
| Hasil | Konsentrasi 75%  | 4 | 4.00      | 16.00        |
|       | Konsentrasi 100% | 4 | 5.00      | 20.00        |
|       | Total            | 8 |           |              |

#### Test Statistics<sup>a</sup>

|                                | Hasil             |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | 6.000             |
| Wilcoxon W                     | 16.000            |
| Z                              | -.577             |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .564              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .686 <sup>b</sup> |

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

## Lampiran 7 Artikel Ilmiah

### Uji *In Vitro* Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Dhea Agustina<sup>1</sup>, Annisa, MKT<sup>2</sup>, Ance Roslina<sup>3</sup>, Emni Purwoningsih<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Indonesia

<sup>4</sup>Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Indonesia

Email Korespondensi: [dheaagustina2008@gmail.com](mailto:dheaagustina2008@gmail.com)  
[annisa@umsu.ac.id](mailto:annisa@umsu.ac.id)  
[anceroslina@yahoo.co.id](mailto:anceroslina@yahoo.co.id)  
[emnipurwoningsih@umsu.ac.id](mailto:emnipurwoningsih@umsu.ac.id)

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Resistensi *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan ancaman global yang mendorong pencarian alternatif pengobatan baru. Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung senyawa bioaktif yang memiliki **aktivitas antibakteri**, namun efektivitasnya terhadap MRSA masih perlu dibuktikan. **Tujuan:** Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis terhadap pertumbuhan MRSA secara *in vitro* serta membandingkannya dengan antibiotik standar. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *post-test only control group design*. Ekstrak etanol 70% diuji pada seluruh konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap MRSA ATCC 43300 menggunakan metode difusi cakram. Vankomisin dan Akuades digunakan sebagai kontrol positif dan negatif. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal–Wallis dan uji *post hoc* Mann–Whitney. **Hasil:** Ekstrak etanol daun jeruk nipis menunjukkan aktivitas antibakteri pada seluruh konsentrasi yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Rata-rata diameter zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 50% sebesar 12,46 mm. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi ekstrak, namun seluruh konsentrasi ekstrak menghasilkan zona hambat yang secara signifikan lebih kecil dibandingkan kontrol positif vankomisin (20,78 mm). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA dan berpotensi dikembangkan sebagai agen antimikroba alami, meskipun efektivitasnya masih lebih rendah dibandingkan vankomisin.

**Kata kunci:** *Citrus aurantifolia*, MRSA, aktivitas antibakteri, ekstrak etanol, difusi cakram.

## ABSTRACT

**Background:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) resistance is a global threat that urgently requires the search for new treatment alternatives. Lime leaves (*Citrus aurantifolia*) contain bioactive compounds with **antibacterial activity**, but their effectiveness against MRSA still needs to be evaluated. **Objective:** To evaluate the antibacterial activity of lime leaf ethanol extract against MRSA growth in vitro and to compare it with a standard antibiotic. **Methods:** This laboratory experimental study used a post-test only control group design. A 70% ethanol extract was tested at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% against MRSA ATCC 43300 using the disk diffusion method. Vancomycin and distilled water were used as positive and negative controls. Data were analyzed using the Kruskal–Wallis test followed by the post hoc Mann–Whitney test. **Results:** The extract showed antibacterial activity at all tested concentrations, as indicated by the formation of inhibition zones. The highest average inhibition zone was observed at the 50% concentration (12.46 mm). Statistical analysis showed no significant differences among extract concentrations; however, all concentrations produced significantly smaller inhibition zones compared to the positive control, vancomycin (20.78 mm). **Conclusion:** Lime leaf ethanol extract exhibits antibacterial activity against MRSA and may be developed as a natural antimicrobial agent, although its effectiveness is still lower than that of vancomycin.

**Keywords:** *Citrus aurantifolia*, MRSA, antibacterial activity, ethanol extract, disk diffusion

## PENDAHULUAN

Resistensi antimikroba merupakan proses alami yang terjadi ketika mikroorganisme mampu bertahan terhadap antibiotik yang sebelumnya efektif. Fenomena ini telah ditemukan sejak akhir tahun 1950-an dan terus berkembang seiring meningkatnya penggunaan antibiotik secara luas. Dalam beberapa dekade terakhir, bakteri mengembangkan berbagai mekanisme untuk melawan efek antibiotik, sehingga banyak obat yang sebelumnya efektif menjadi tidak lagi bekerja.<sup>1</sup> Laporan dari PLOS Medicine menyebutkan bahwa resistensi antimikroba menyebabkan sekitar 4,95 juta kematian secara global pada tahun 2019, terutama di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah. Masalah ini diperparah oleh peningkatan penggunaan antibiotik sebesar sekitar 65% antara tahun 2000

hingga 2015, khususnya di wilayah Asia dan Afrika.<sup>2</sup> Selain itu, lemahnya sistem pengawasan resistensi serta ketimpangan akses terhadap antibiotik turut mempercepat penyebaran resistensi antimikroba secara global.<sup>3</sup>

Patogen yang resisten terhadap berbagai antibiotik dapat menyebabkan infeksi serius dan berpotensi fatal, seperti infeksi aliran darah dan paru-paru.<sup>1</sup> World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa antimicrobial resistance (AMR) menyebabkan sekitar 700.000 kematian pada tahun 2019 dan diperkirakan dapat meningkat hingga 20 juta kematian per tahun pada tahun 2050, dengan dampak ekonomi mencapai US\$2,9 triliun.<sup>4</sup> Perubahan demografi global yang mengarah pada meningkatnya populasi usia lanjut dengan komorbiditas dan penurunan sistem imun turut meningkatkan risiko sepsis dan

mortalitas akibat AMR.<sup>5</sup> Di Indonesia, penggunaan antibiotik tanpa resep masih menjadi permasalahan serius, dengan sekitar 69% kunjungan ke toko obat berakhir dengan pembelian antibiotik tanpa resep.<sup>6</sup> Kondisi ini mencerminkan rendahnya kesadaran masyarakat serta lemahnya pengawasan terhadap penggunaan antibiotik yang rasional.<sup>7</sup>

Salah satu patogen yang menjadi perhatian utama dalam masalah resistensi antimikroba adalah *Staphylococcus aureus*.<sup>8</sup> Bakteri ini dapat mengkolonisasi hingga 80% populasi, terutama pada mukosa hidung, dan menjadi penyebab berbagai infeksi serius baik di rumah sakit maupun di masyarakat.<sup>9</sup> Resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam terutama disebabkan oleh keberadaan gen *mecA* yang menghasilkan protein PBP2a, sehingga menurunkan afinitas antibiotik terhadap target bakteri. Selain itu, produksi enzim  $\beta$ -laktamase menyebabkan antibiotik seperti penisilin menjadi tidak efektif. Meskipun metisilin sempat digunakan sebagai alternatif, resistensi kembali muncul dan menghasilkan strain *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).<sup>10</sup>

MRSA pertama kali diidentifikasi di Inggris pada tahun 1961 dan sejak itu menyebar secara luas ke berbagai negara.<sup>10</sup> Bakteri ini menunjukkan resistensi terhadap berbagai antibiotik golongan  $\beta$ -laktam dan dapat menyebar melalui kontak langsung maupun tidak langsung melalui benda yang terkontaminasi.<sup>11,12</sup> MRSA dapat menyebabkan infeksi berat seperti sepsis, osteomielitis, pneumonia, dan infeksi aliran darah.<sup>10</sup> Secara global, prevalensi kolonisasi MRSA dilaporkan cukup tinggi, terutama pada populasi lansia dan pasien di fasilitas perawatan. Di kawasan Asia, prevalensi MRSA

merupakan yang tertinggi secara global, dengan variasi yang luas antar negara.<sup>13</sup> Di Indonesia, data Surveillance of Indonesian Network for Antimicrobial Resistance (SINAR) menunjukkan bahwa sekitar 33% kasus infeksi MRSA ditemukan di rumah sakit pada tahun 2023.<sup>14</sup>

Saat ini, beberapa antibiotik seperti vankomisin, linezolid, dan daptomycin masih digunakan untuk menangani infeksi MRSA.<sup>15,16</sup> Namun, berbagai penelitian menunjukkan adanya peningkatan resistensi MRSA terhadap beberapa antibiotik tersebut, sehingga efektivitas pengobatan menjadi semakin terbatas.<sup>17</sup> Kondisi ini menegaskan urgensi pengembangan alternatif pengobatan non-antibiotik, salah satunya melalui pemanfaatan tanaman obat sebagai sumber antibakteri alami.

Ekstrak tumbuhan dinilai memiliki potensi sebagai agen antibakteri karena relatif lebih aman dan memiliki risiko resistensi yang lebih rendah dibandingkan antibiotik sintetis.<sup>18</sup> Berbagai penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dari tumbuhan memiliki aktivitas yang kuat terhadap MRSA.<sup>19</sup> Ekstrak etanol daun *Citrus hystrix* yang masih satu famili dengan jeruk nipis terbukti mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.<sup>20</sup> Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif.<sup>21</sup> Namun, penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis terhadap bakteri yang telah resisten, khususnya MRSA, masih sangat terbatas.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus*

*aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara in vitro, sebagai upaya awal dalam pengembangan sumber antibakteri alami terhadap bakteri resisten.

## METODE PENELITIAN

### Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang dilakukan secara in vitro dengan rancangan post-test only with control group design. Penelitian bertujuan untuk menilai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara pada periode Agustus–Oktober 2025.

### Bahan dan Sampel Penelitian

Bakteri uji yang digunakan adalah *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 yang diperoleh dari koleksi kultur Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Daun jeruk nipis diperoleh dari salah satu pasar tradisional di Kota Medan dan dilakukan identifikasi botani di Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara untuk memastikan keaslian spesies.

### Kelompok Perlakuan

Pada penelitian eksperimental ini menggunakan rumus Federer dalam menentukan minimal jumlah pengulangan yang dilakukan sehingga hasil yang didapatkan valid. Berikut perhitungan yang dilakukan:

Rumus Federer:  $(t - 1)(r - 1) \geq 15$

Keterangan:

- $t = 6$  kelompok perlakuan
- $r =$  jumlah ulangan pada tiap kelompok

Sehingga:

$$t = 6$$

Maka perhitungan sebagai berikut:

$$(6 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$5(r - 1) \geq 15$$

$$r - 1 \geq 3$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, maka jumlah pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali untuk masing-masing kelompok perlakuan.

Jadi, total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. 6 kelompok  $\times$  4 kali pengulangan = 24 sampel. Dengan rincian sebagai berikut: Kontrol positif: vankomisin 30  $\mu$ g
2. Kontrol negatif: akuades
3. Ekstrak etanol daun jeruk nipis konsentrasi 25%
4. Ekstrak etanol daun jeruk nipis konsentrasi 50%
5. Ekstrak etanol daun jeruk nipis konsentrasi 75%
6. Ekstrak etanol daun jeruk nipis konsentrasi 100%

### Pembuatan Simplisia dan Ekstrak

Daun jeruk nipis segar dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang selama tiga hari hingga diperoleh simplisia kering. Simplisia kemudian dihaluskan dan diayak hingga diperoleh serbuk halus. Sebanyak 368 gram serbuk simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Proses maserasi dilakukan selama tiga hari untuk tahap pertama dan satu hari untuk tahap kedua. Maserat yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan rotary evaporator pada

suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental.

### Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak kental hasil maserasi dianggap sebagai konsentrasi 100%. Pengenceran dilakukan menggunakan DMSO 10% sebagai pelarut hingga diperoleh konsentrasi 25%, 50%, dan 75%, sedangkan konsentrasi 100% digunakan tanpa pengenceran. Ekstrak kental hasil maserasi dianggap sebagai ekstrak 100%. Untuk keperluan uji antibakteri, ekstrak akan diencerkan menggunakan DMSO 10% sebagai pelarut pembawa, hingga diperoleh konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Konsentrasi 100% digunakan langsung tanpa pengenceran. Pengenceran dilakukan berdasarkan rumus:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

di mana:

M= konsentrasi ekstrak awal (100%)

V1 = volume ekstrak yang diambil

M2 = konsentrasi ekstrak yang diinginkan

V2 = volume total larutan

Tabel 1 Tabel Pengenceran

| Konsentrasi ekstrak awal (M <sub>1</sub> ) | Konsentrasi (M <sub>2</sub> ) | Volume ekstrak (V <sub>1</sub> ) | Volume total (V <sub>2</sub> ) | Volume DMSO 10% | V <sub>1</sub> ×4 |
|--------------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|-----------------|-------------------|
| 100%                                       | 25%                           | 0,25 mL                          | 4 mL                           | 0,75 mL         | 1,00              |
| 100%                                       | 50%                           | 0,5 mL                           | 4 mL                           | 0,5 mL          | 2,00              |
| 100%                                       | 75%                           | 0,75 mL                          | 4 mL                           | 0,25 mL         | 3,00              |
| 100%                                       | 100%                          | 1 mL                             | 4 mL                           | 0 mL            | 4,00              |

Tabel 2 Tabel Kontrol

| Kelompok                     | Volume sekali uji | Total Volume = V×4 |
|------------------------------|-------------------|--------------------|
| Kontrol positif (Vankomisin) | 1 mL              | 5 mL               |
| Kontrol negatif (Akuades)    | 1 mL              | 5 mL               |

### Uji Fitokimia

Ekstrak etanol daun jeruk nipis diuji secara kualitatif untuk mendeteksi kandungan senyawa aktif meliputi

alkaloid (reagen Dragendorff), flavonoid (uji magnesium-HCl), saponin (uji busa), dan tanin (uji FeCl<sub>3</sub>).

### Persiapan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri MRSA dibuat dengan mengambil satu ose koloni bakteri dan diinokulasikan ke dalam larutan NaCl 0,9%, kemudian dihomogenkan hingga diperoleh kekeruhan yang sesuai.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram pada media Mueller-Hinton Agar (MHA). Disk kosong direndam selama 15 menit pada masing-masing larutan ekstrak, kontrol positif, dan kontrol negatif. Suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan media MHA menggunakan swab steril, kemudian disk diletakkan pada permukaan media dengan jarak minimal 15 mm antar disk. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dan diklasifikasikan berdasarkan kriteria Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

### Analisis Data

Data diameter zona hambat disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis menggunakan program SPSS. Analisis univariat dilakukan untuk mendeskripsikan setiap variabel penelitian. Analisis bivariat dilakukan menggunakan uji One-Way ANOVA apabila data berdistribusi normal, atau uji Kruskal-Wallis apabila data tidak berdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan uji post hoc.

## HASIL

### 1. Hasil Uji Fitokimia Daun Jeruk Nipis

Tabel 3 Hasil Uji Skrining Fitokimia

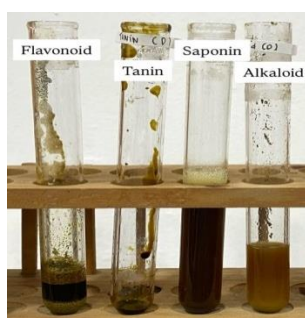
| Kandungan kimia | Reagent Hasil | Keterangan           |
|-----------------|---------------|----------------------|
| Alkaloid        | Positif       | Warna jingga         |
| Flavonoid       | Positif       | Warna merah bata     |
| Tanin           | Positif       | Warna hitam kebiruan |
| Saponin         | Positif       | Busa                 |

Keterangan:

Positif: Mengandung senyawa metabolit sekunder

Negatif: Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan Tabel 3 dari hasil Uji Fitokimia terdeteksi adanya senyawa golongan Alkaloid, Flavonoid, Tanin, dan Saponin dengan ditandai terbentuknya perubahan warna atau endapan yang sesuai dengan masing-masing pereaksi uji.



Gambar 1, Gambar hasil uji Fitokimia

## 2. Hasil Pengujian Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis Terhadap Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Tabel 4 Diameter zona hambat ekstrak daun jeruk nipis pada beberapa konsentrasi.

| Pengulangan | Diameter zona hambat (mm) |      |      |      |      |   |
|-------------|---------------------------|------|------|------|------|---|
|             | 25%                       | 50%  | 75%  | 100% | +    | - |
| P 1         | 10,3                      | 11,3 | 12,7 | 12,8 | 21,4 | 0 |
| P 2         | 10,3                      | 12,3 | 12,6 | 11,8 | 20,7 | 0 |
| P 3         | 8,5                       | 9,5  | 9,5  | 10,2 | 20,4 | 0 |

| Pengulangan | Diameter zona hambat (mm) |       |       |      |       |   |
|-------------|---------------------------|-------|-------|------|-------|---|
|             | 25%                       | 50%   | 75%   | 100% | +     | - |
| P 4         | 8,6                       | 16,75 | 9,1   | 10,0 | 20,6  | 0 |
| Rerata      | 9,43                      | 12,46 | 10,98 | 11,2 | 20,78 | 0 |

Berdasarkan Tabel 4, hasil zona hambat pada berbagai konsentrasi menunjukkan variasi antar pengulangan. Zona tertinggi dicapai pada konsentrasi 25% (10,3 mm; pengulangan 1 & 2), 50% (16,75 mm; pengulangan 4), 75% (12,7 mm; pengulangan 1), dan 100% (12,8 mm; pengulangan 1). Vankomisin menghasilkan zona tertinggi 21,4 mm (pengulangan 1), sedangkan akuades tidak membentuk zona hambat.



Gambar 2, Gambar diameter zona hambat (mm) pada setiap kelompok perlakuan.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, terbukti adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun jeruk nipis yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekeliling cakram. Meskipun diameter zona hambat ekstrak lebih kecil daripada vankomisin, terbentuknya zona bening telah mengonfirmasi adanya aktivitas penghambatan.

Semua konsentrasi ekstrak (25%, 50%, 75%, dan 100%) mampu membentuk zona hambat, meskipun diameter yang dihasilkan berbeda-beda. Namun, peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu dibarengi dengan

peningkatan diameter zona hambat. Variasi diameter zona hambat antarpengulangan dipengaruhi oleh faktor teknis selama proses pengujian, seperti perbedaan tekanan saat penempelan cakram dan tingkat homogenitas ekstrak.<sup>22</sup>

Hasil pengujian menunjukkan bahwa konsentrasi 50% menghasilkan diameter zona hambat yang lebih luas dibandingkan dengan konsentrasi 75% dan 100%. Fenomena ini mengindikasikan bahwa konsentrasi tidak selalu berkorelasi positif dengan efektivitas antibakteri.<sup>23</sup> Pada konsentrasi yang lebih tinggi, peningkatan kadar ekstrak tidak selalu diikuti oleh peningkatan diameter zona hambat karena metode difusi cakram sangat bergantung pada kemampuan senyawa aktif untuk berdifusi ke dalam media agar.<sup>24</sup>

Terbentuknya area hambatan diduga kuat berkaitan dengan senyawa fitokimia yang teridentifikasi pada uji pendahuluan ekstrak daun jeruk nipis, yakni alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Alkaloid diketahui mampu menghalangi pertumbuhan bakteri dengan mengganggu biosintesis asam nukleat dan protein.<sup>25,26</sup> Flavonoid dapat merusak membran sel bakteri.<sup>27</sup> Tanin bekerja dengan menghambat bakteri melalui menginaktivasi protein pada dinding dan membran sel.<sup>28</sup> Sementara itu, saponin berperan dengan cara berikatan langsung dengan komponen membran sel bakteri.<sup>29</sup> Kombinasi dari berbagai mekanisme tersebut dapat mengganggu fungsi struktur dan metabolisme sel bakteri.

Bentuk zona hambat yang tidak selalu bulat sempurna dapat dijelaskan oleh adanya faktor teknis serta sifat fisikokimia dari ekstrak.<sup>30</sup> Zona hambat yang asimetris menunjukkan adanya keterbatasan metode difusi cakram ketika digunakan untuk ekstrak

tumbuhan kasar. Metode difusi cakram yang dikembangkan untuk pengujian antibiotik yang bersifat hidrofilik kurang optimal untuk senyawa bersifat lipofilik seperti flavonoid dan tanin.<sup>31</sup>

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis dalam penelitian ini dengan diameter zona hambat berkisar antara 9,43–12,46 mm terhadap MRSA menunjukkan hal yang sejalan dengan temuan penelitian sebelumnya. Perbedaan nilai diameter zona hambat dapat dikarenakan perbedaan varietas tanaman, kondisi pertumbuhan, metode ekstraksi, serta strain bakteri uji yang digunakan.<sup>32,33</sup>

Keterbatasan metode difusi cakram diperhatikan dalam interpretasi hasil penelitian ini karena metode ini dipengaruhi oleh kemampuan senyawa aktif untuk berdifusi secara merata ke dalam media agar.<sup>24</sup> Hasil uji difusi cakram dalam penelitian ini lebih bersifat kualitatif hingga semi-kuantitatif.

Variasi hasil juga dapat dipengaruhi oleh karakteristik ekstrak sebagai produk bahan alam.<sup>34</sup> Ekstrak daun jeruk nipis merupakan susunan dari berbagai senyawa dengan sifat fisikokimia yang berbeda.<sup>35</sup> Keberagaman komponen tersebut dapat menyebabkan variasi pola difusi dan bentuk zona hambat.<sup>36</sup>

Meskipun demikian, terbentuknya zona hambat pada seluruh konsentrasi ekstrak membuktikan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis aktif menghambat pertumbuhan MRSA. Temuan dalam studi ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun jeruk nipis berpotensi menjadi kandidat sumber senyawa antibakteri alami.<sup>37</sup> Namun, penemuan ini masih bersifat awal dan diperlukan penelitian lebih lanjut seperti well diffusion dan agar dilusi, serta identifikasi senyawa aktif untuk mengetahui komponen yang

paling berperan.

Secara umum, analisis statistik mengungkapkan tidak adanya perbedaan yang bermakna secara statistik pada daya hambat antar berbagai konsentrasi ekstrak. Keberadaan zona hambat pada semua konsentrasi dan pengulangan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA. Maka dari itu, meskipun adanya variasi ukuran dan bentuk zona hambat akibat faktor teknis, keterbatasan metode, serta sifat ekstrak bahan alam, hasil penelitian ini tetap valid dan mendukung potensi daun jeruk nipis sebagai sumber senyawa antibakteri.

## KESIMPULAN

Berdasarkan Hasil dan pembahasan yang dijelaskan diatas, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada semua konsentrasi (25%, 50%, 75%, dan 100%).
2. Walaupun rata-rata zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 50% (12,46 mm), secara statistik tidak terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi, sehingga seluruh konsentrasi ekstrak menunjukkan efektivitas yang relatif sama dalam menghambat pertumbuhan MRSA.
3. Aktivitas ekstrak etanol daun jeruk nipis secara statistik menunjukkan nilai yang lebih rendah jika dibandingkan dengan Vankomisin yang berperan sebagai kontrol positif.

## REFERENSI

1. Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C. Pathogens-10-01310-

V2.Pdf. Pathogens. 2021;10(1310):1-14.

2. Walsh TR, Gales AC, Laxminarayan R, Dodd PC. Antimicrobial Resistance: Addressing a Global Threat to Humanity. PLoS Med. 2023;20(7 July):12-15. doi:10.1371/journal.pmed.1004264
3. Ho CS, Wong CTH, Aung TT, et al. Antimicrobial resistance: a concise update. The Lancet Microbe. 2025;6(1):1-14. doi:10.1016/j.lanmic.2024.07.010
4. Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, et al. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. J Infect Public Health. 2021;14(12):1750-1766. doi:10.1016/j.jiph.2021.10.020
5. Collaborators AR. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. Published online 2024. doi:10.1016/S0140-6736(24)01867-1
6. Wulandari LPL, Khan M, Liverani M, et al. Prevalence and determinants of inappropriate antibiotic dispensing at private drug retail outlets in urban and rural areas of Indonesia: A mixed methods study. BMJ Glob Heal. 2021;6(8):1-11. doi:10.1136/bmjgh-2021-004993
7. Yunita SL, Yang HW, Chen YC, et al. Knowledge and practices related to antibiotic use among women in Malang, Indonesia. Front Pharmacol. 2022;13(October):1-11. doi:10.3389/fphar.2022.1019303
8. van der Vaart TW, Prins JM, Soetekouw R, et al. All-Cause and Infection-Related Mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia, a Multicenter Prospective Cohort

- Study. *Open Forum Infect Dis.* 2022;9(12):1-9.  
doi:10.1093/ofid/ofac653
9. Lam JC, Stokes W. The Golden Grapes of Wrath – *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Clinical Review. *Am J Med.* 2023;136(1):19-26.  
doi:10.1016/j.amjmed.2022.09.017
  10. Shoaib M, Aqib AI, Muzammil I, et al. MRSA compendium of epidemiology, transmission, pathophysiology, treatment, and prevention within one health framework. *Front Microbiol.* 2023;13(January).  
doi:10.3389/fmicb.2022.1067284
  11. Li J, Cheng F, Wei X, et al. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA): Resistance, Prevalence, and Coping Strategies. Published online 2025;1-19.
  12. Bes TM, Soares RE, Ruedas Martins R, et al. Evaluating long-term MRSA colonization and household spread: Insights from a community-based study. *Brazilian J Infect Dis.* 2025;29(2):104518.  
doi:10.1016/j.bjid.2025.104518
  13. Hasanpour AH, Sepidarkish M, Mollalo A, et al. The global prevalence of *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* colonization in residents of elderly care centers: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2023;12(1):1-11.  
doi:10.1186/s13756-023-01210-6
  14. Osok TMZ, Waworuntu OA, Homenta H, Sam U, Manado R. Identifikasi *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* pada Tenaga Kesehatan di Instalasi Gawat Darurat dan Rawat Inap Rumah Sakit Islam Sitti Maryam Manado. 2025;6(1):677-684.
  15. Widyastriana DMD, Cahyaningsih E, Wardani IGA. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tanaman Obat Terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Antibacterial Activity of Medicinal Plants Extract against *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Usadha J Integr Obat Tradis.* 2021;1(1):30-37.
  16. Siddiqui AH, Koirala J. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Encycl Intensive Care Med.* Published online 2012:1394-1394.  
doi:10.1007/978-3-642-00418-6\_3203
  17. You T, Shi K. Monitoring of antimicrobial resistance in respiratory tract pathogens during the COVID-19 pandemic: A retrospective study. *Med (United States).* 2024;103(19):E38101.  
doi:10.1097/MD.00000000000038101
  18. Seyedalinaghi S, Mehraeen E, Mirzapour P, Yarmohammadi S. A systematic review on natural products with antimicrobial potential against WHO's priority pathogens. Published online 2025.
  19. Xu S, Kang A, Tian Y, et al. Plant Flavonoids with Antimicrobial Activity against *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *ACS Infect Dis.* 2024;10(9):3086-3097.  
doi:10.1021/acsinfecdis.4c00292
  20. Azhar G, Ridwanto R, Nasution HM, Pulungan AF, Rani Z. Antibacterial Activity of Kaffir Lime Leaf (*Citrus hystrix* DC) Ethanol Extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Indones J Sci Pharm.* 2024;2(1):16-21.  
doi:10.63763/ijsp.v2i1.48
  21. Perdana AA. Mikroenkapsulasi

- Minyak Daun Jeruk Nipis ( *Citrus aurantifolia* ) Dengan Matriks Maltodextrin Menggunakan Metode Freeze-Drying. [Skripsi]. Published online 2020.
22. Hossain TJ. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols , advantages , and limitations. Published online 2024. doi:10.1556/1886.2024.00035
  23. Cymbopogon W, Jeruk D, Citrus N. Antibacterial Activity Test of the Combination of Citronella Leaf Extract ( *Cymbopogon nardus* L . ) and Lime Leaf Extract ( *Citrus aurantifolia* Swingle ) Against the Growth of *Streptococcus mutans*. 2025;4(2):694-706.
  24. Bubonja-šonje M, Knežević S, Abram M. Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant- derived polyphenolic compounds. Published online 2020:300-311. doi:10.2478/aiht-2020-71-3396
  25. Yumei Yan 1, Xing Li 1, Chunhong Zhang 1, 2, 3, Lijuan Lv 4, Bing Gao 1, and Minhui Li 1, 2, 3 5. Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *Front Pharmacol*. 2022;13. doi:10.3389/fphar.2022.805986
  26. Kifayat S, Yele V, Ashames A. RSC Advances Filamentous temperature sensitive mutant Z : a putative target to combat antibacterial resistance. Published online 2023:11368-11384. doi:10.1039/d3ra00013c
  27. Angellotti G, Tixier A sylvie F, Pagliaro M. Citrus Flavonoids as Antimicrobials. Published online 2025. doi:10.1002/cbdv.202403210
  28. Xu H, Gong L, Guo Y. Integrated transcriptomics and metabolomics reveal multi - target mechanisms of tannins against *Clostridium perfringens* and necrotic enteritis. 2025;3:1-18.
  29. Li J, Monje-galvan V. In Vitro and In Silico Studies of Antimicrobial Saponins : A Review. Published online 2023.
  30. Puxeddu S, Canton S, Scano A, et al. Beyond One-Size-Fits-All : Addressing Methodological Constraints in Novel Antimicrobials Discovery. Published online 2025:1-18.
  31. Eloff JN. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. 2019;3:1-8.
  32. Putri TI, Sofya SW, Yulia B, Pratiwi H. Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAUN PATIKAN KEBO ( *Euphorbia hirta* L . ) TERHADAP *Bacillus cereus*. 2025;9(8).
  33. Zaki SH, Selim DA, Khalifa N, Aasy A. Evaluation of the antibacterial potential in shoot and root extracts of *Eryngium campestre* with emphasis on Egyptian ecotype. Published online 2025:1-14.
  34. Res IJA. Manuscript Info Abstract ISSN : 2320-5407 Introduction : - Materials and methods : -. 4(8):1574-1579. doi:10.21474/IJAR01/1364
  35. Subhashini SU, Pearl AJ. ISSN : 0970-2091 Phytochemical screening of *Citrus aurantifolia* leaf extract. 2025;40(21213162032022):1839-1844.
  36. Sun S, Yu Y, Jo Y, et al. Impact of extraction techniques on phytochemical composition and bioactivity of natural product mixtures. 2025;(July):1-14.

- doi:10.3389/fphar.2025.1615338
37. Arabia S. Antibiotic susceptibility  
of methicillin-resistant.  
2024;(March):1-6.