UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK MANIS (*Citrus sinensis*) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus pneumoniae* DAN *Klebsiella pneumoniae*

Usulan Skripsi

Farmasi Klinis dan Komunitas

Diajukan Oleh:

Adhya Mumtaza

220102079

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN

ISFI BANJARMASIN

TA. 2024-2025

PERSETUJUAN USULAN SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK MANIS (*Citrus sinensis*) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus pneumoniae* DAN *Klebsiella pneumoniae*

Oleh:

Adhya Mumtaza

220102079

Untuk dipertahankan dihadapan panitia penguji Usulan Skripsi

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan ISFI Banjarmasin

Dosen Pembimbing I	Dosen Pembimbing II
apt. Dwi Rizki Febrianti, M.Farm	apt. Desy Ayu Lestari, M.Si
Tanggal: 14 Juli 2025	Tanggal: 14 Juli 2025

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur ke hadirat Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga calon peneliti dapat menyelesaikan Usulan Skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*". Usulan Skripsi ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Program Studi S1 Farmasi Klinis dan Komunitas di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan ISFI Banjarmasin.

Dalam penyusunan Usulan Skripsi ini calon peneliti banyak mengalami hambatan, namun berkat bantuan, bimbingan, motivasi dan doa dari berbagai pihak akhirnya Usulan Skripsi ini terselesaikan dengan baik. Sehingga dengan kerendahan hati dan rasa hormat calon peneliti mengucapkan terimakasih kepada:

1. apt. Erna Prihandiwati, S.F., M.Farm selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan ISFI Banjarmasin.
2. apt. Noor Aisyah, M.Pharm. Sci selaku Kepala Program Studi S1 Farmasi Klinis dan Komunitas Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan ISFI Banjarmasin.
3. apt. Dwi Rizki Febrianti, M.Farm selaku pembimbing I yang senantiasa menyediakan waktu dan tenaga dalam memberikan pengarahan, bimbingan serta memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan Usulan Skripsi ini.
4. apt. Desy Ayu Lestari, M.Si selaku pembimbing II yang senantiasa menyediakan waktu dan tenaga dalam memberikan pengarahan, bimbingan serta memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan Usulan Skripsi ini.

5. Keluarga tercinta atas segala bantuan, motivasi, dorongan serta doa restu yang diberikan kepada calon peneliti selama penyusunan Usulan Skripsi ini.
6. Sahabat dan teman-teman yang selalu memberikan dukungan, semangat dan doa kepada calon peneliti selama penyusunan Usulan Skripsi ini.

Calon peneliti menyadari banyak kekurangan, kelemahan, dan keterbatasan dalam penyusunan Usulan Skripsi ini. Oleh karena itu, sangat diharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dan kesempurnaannya. Akhir kata, calon peneliti berharap Usulan Skripsi ini dapat bermanfaat bagi berbagai pihak.

Banjarmasin, 20 Juni 2025

Adhya Mumtaza

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **ii**
KATA PENGANTAR ..... **iii**
DAFTAR ISI ..... **v**
DAFTAR TABEL ..... **vi**
DAFTAR GAMBAR ..... **vii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **viii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Manfaat Penelitian 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **4**
2.1 Teori Pustaka 4
2.2 Kerangka Berpikir 16
2.3 Hipotesis 17
BAB III METODE PENELITIAN **18**
3.1 Jenis Penelitian 18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian 18
3.3 Populasi dan Sampel 18
3.4 Variabel dan Definisi Operasional 18
3.5 Prosedur Penelitian 20
3.6 Pengolahan Data 24
3.7 Jadwal Penelitian 25
DAFTAR PUSTAKA **26**
LAMPIRAN **30**

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional 19
Tabel 2. Kategori Zona Hambat 24
Tabel 3. Jadwal Penelitian 24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) 4
Gambar 2. Bakteri *Streptococcus pneumoniae* 8
Gambar 3. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* 10
Gambar 4. Metode Difusi Sumuran 14
Gambar 5. Metode Difusi Cakram 15
Gambar 6. Kerangka Berpikir 16

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Media..... 30

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pneumonia adalah penyakit infeksi akut pada jaringan paru-paru (*alveolus*). Pneumonia menjadi salah satu infeksi utama yang menyebabkan tingginya angka kesakitan dan kematian pada bayi dan anak-anak di dunia. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2019 menunjukkan pneumonia menjadi penyebab 14% dari total kematian anak dibawah lima tahun (balita) secara global. Pada tahun 2023, penemuan pneumonia pada balita di Indonesia turun menjadi 36,95% yang mana beberapa provinsi dengan tingkat penemuan kasus tertinggi yaitu Papua Barat (75%), DKI Jakarta (72,4%), dan Bali (71,6%). Pneumonia dapat disebabkan oleh berbagai jenis mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, maupun parasit (Kemenkes, 2024). Penyebab pneumonia bakteri yang paling umum adalah *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* (Kato, 2024).

Streptococcus pneumoniae adalah bakteri gram positif yang dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, sepsis, dan otitis media (Li *et al*., 2023). Patogen ini menjadi penyebab utama pneumonia yang didapat dari *Community Acquired Pneumonia* (CAP) dan memberikan dampak infeksi besar terutama pada anak-anak berusia dibawah lima tahun (Chen *et al*., 2025). *Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri gram negatif yang menyebabkan meningitis, sepsis, infeksi saluran kemih, selain itu juga menjadi penyebab pneumonia yang didapat dari *Community*

Acquired Pneumonia (CAP) (Asokan *et al*., 2025) (Ochońska dan Brzychczy-Włoch, 2024).

Streptococcus pneumoniae dan *Klebsiella pneumoniae* dapat diatasi dengan terapi kombinasi antibiotik ß-laktam dan ß-laktamase inhibitor, terutama sulbaktam-ampisilin (SAM) dan seftriakson (Kato, 2024). Semakin meningkatnya penggunaan dan penyalahgunaan antibiotik memicu resistensi dan meningkatkan risiko kematian (Salam *et al*., 2023). *Streptococcus pneumoniae* diketahui resistensi terhadap Penisilin, Makrolida, Fluorokuinolon, Sulfametoksazol-Trimetoprim (Li *et al*., 2023), sedangkan *Klebsiella pneumoniae* resistensi terhadap Sefalosporin, Aminoglikosida, Karbapenem, dan Fosfomisin (Asokan *et al*., 2025). Hal ini menunjukkan diperlukannya alternatif pengobatan antibakteri yang lebih aman.

Salah satu alternatif yang berpotensi adalah minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) yang mengandung senyawa aktif *d-limonene*, *linalool*, *decanal*, dan *octanal* yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri (Favela-Hernández *et al*., 2016). Penelitian Yohanes *et al*., 2023 menunjukkan minyak atsiri kulit jeruk manis mampu menghambat bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* dan *Enterococcus faecalis* penyebab infeksi kulit dan saluran kemih, sedangkan penelitian Mohammed *et al*., 2024 mampu menghambat bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* penyebab infeksi saluran cerna dan saluran pernapasan. Namun penelitian tersebut belum menguji efektivitasnya terhadap bakteri patogen penyebab pneumonia, sehingga peneliti tertarik untuk melakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*?
2. Berapa zona hambat yang dihasilkan oleh minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui apakah minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.
2. Mengetahui berapa zona hambat yang dihasilkan oleh minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

   Penelitian ini menambah wawasan tentang potensi minyak atsiri kulit jeruk manis terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

2. Bagi Institusi

   Penelitian ini dapat menjadi referensi bagi institusi dalam memperkaya data ilmiah terkait pengobatan berbasis bahan alam.

3. Bagi Masyarakat

   Penelitian ini dapat menjadi potensi ditemukannya alternatif pengobatan yang lebih aman untuk mengatasi infeksi oleh bakteri pneumonia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teori Pustaka

2.1.a Tanaman Jeruk Manis (*Citrus sinensis*)

Citrus sinensis atau yang dikenal sebagai jeruk manis merupakan tanaman asli Asia yang kini tersebar luas di wilayah Pasifik dan daerah beriklim hangat. Tanaman ini berupa pohon hijau abadi setinggi 9–10 meter dengan cabang berduri besar. Daunnya tersusun berselang-seling, memiliki tangkai daun bersayap sempit lebar 3–5 mm dan panjang 6,5–15 cm. Bunganya tumbuh di ketiak daun, baik secara tunggal maupun berkelompok hingga enam bunga, dengan diameter sekitar 5 cm. Buahnya berbentuk bulat hingga oval (6,5–9,5 cm) dan saat matang berwarna oranye atau kuning. *Citrus sinensis* banyak dikonsumsi karena kaya vitamin C yang berperan sebagai antioksidan alami untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Secara tradisional, jeruk manis digunakan untuk mengatasi sembelit, kram, kolik, diare, batuk, pilek, kecemasan, hingga stres (Favela-Hernández *et al*., 2016).

2.1.a.1 Klasifikasi Jeruk Manis (*Citrus sinensis*)



Gambar 1. Tanaman Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) (Mojo *et al*., 2024)

Kingdom	:	*Plantae*
Subkingdom	:	*Tracheobionta*
Super Divisi	:	*Spermatophyta*
Divisi	:	*Magnoliophyta*
Kelas	:	*Magnoliopsida*
Sub Kelas	:	*Rosidae*
Ordo	:	*Sapindales*
Famili	:	*Rutaceae*
Genus	:	*Citrus*
Spesies	:	*Citrus sinensis* (Mojo *et al*., 2024)

2.1.a.2 Morfologi Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*)

Kulit jeruk manis memiliki lapisan epidermis yang dilapisi lilin epikutikular dan dipenuhi kelenjar minyak aromatik kecil yang memberikan aroma khas buah jeruk. Kulit atau perikarp bagian luar yang disebut flavedo atau epikarp, tersusun atas sel-sel parenkim dan dilapisi oleh kutikula. Sementara itu lapisan bagian bawah disebut albedo atau mesokarp, terdiri atas jaringan sel berbentuk tabung yang terhubung satu sama lain dengan membentuk jaringan rapat yang mengisi ruang antar sel (Favela-Hernández *et al*., 2016).

2.1.a.3 Kandungan Senyawa Aktif Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*)

Kulit jeruk manis diketahui mengandung beragam senyawa kimia, terutama golongan metabolit sekunder. Beberapa di antaranya meliputi minyak atsiri, flavonoid, steroid, terpenoid, alkana, etil ester, tanin, saponin, glikosida (Mojo *et al*., 2024) (Ogo *et al*., 2024). Komponen utama dalam minyak atsiri adalah

d-limonene dengan kadar mencapai 98,238%, diikuti oleh senyawa lain seperti *sabinene, β-myrcene, β-pinene,* dan *α-pinene* yang tergolong dalam kelompok monoterpen. Senyawa flavonoid yang berperan dalam memberikan aroma khas jeruk yaitu *narirutin, hesperidin, nobiletin,* dan *tangeritin* beserta turunannya. Ekstrak metanol kulit jeruk menunjukkan adanya senyawa steroid seperti *β-sitosterol* dan turunannya, *β-sitosterol-3-O-β-D-glukopiranosida*. Aroma khas jeruk turut dipengaruhi oleh *limonoid* dari senyawa triterpenoid yang ditemukan dalam kulit jeruk. Senyawa *tetracosane* dan *etil pentacosanoat* dari golongan alkana dan etil ester juga berhasil diidentifikasi melalui ekstraksi menggunakan metanol (Mojo *et al*., 2024).

2.1.a.4 Aktivitas Antibakteri Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*)

Penelitian oleh Yohanes *et al*., 2023 minyak atsiri kulit jeruk manis memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* (10.67±0.58 mm) dan *Enterococcus faecalis* (10.67±1.15 mm). Penelitian lain oleh Mohammed *et al*., 2024 minyak atsiri kulit jeruk manis juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (13±1.41 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (12±1.10 mm), *Staphylococcus aureus* (10±0.41 mm), dan *Bacillus subtilis* (13±1.03 mm).

Aktivitas antibakteri yang dimiliki tanaman umumnya diyakini berasal dari metabolit sekunder seperti tanin dan terpenoid. Tanin yang ditemukan dalam ekstrak kulit jeruk manis diketahui dapat membentuk kompleks ireversibel dengan protein kaya prolin yang mengakibatkan penghambatan sintesis protein sel. Terpenoid yang terdapat dalam ekstrak etanol jeruk manis berperan dalam kerusakan membran oleh zat lipofilik. Adanya berbagai metabolit sekunder dalam

kulit jeruk manis dapat menjelaskan perannya sebagai agen antibakteri (Yohanes *et al*., 2023).

2.1.b Pneumonia

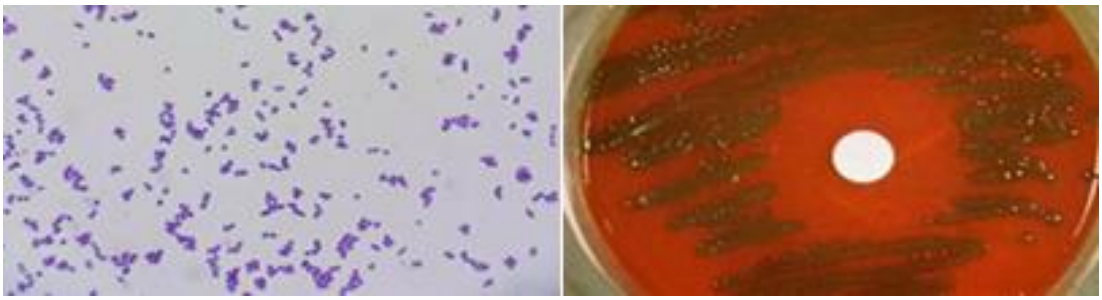
Pneumonia merupakan penyakit yang memiliki tingkat kesakitan dan kematian yang tinggi secara global, dengan angka kejadian yang semakin meningkat, terutama pada individu yang memiliki sistem kekebalan tubuh lemah, anak-anak, dan lansia. Pneumonia didefinisikan sebagai munculnya infiltrat baru di paru-paru dengan tanda-tanda klinis yang menunjukkan bahwa infiltrat tersebut disebabkan oleh infeksi, seperti demam yang baru muncul, sputum purulen, peningkatan jumlah sel darah putih, dan penurunan kadar oksigen dalam darah (Kato, 2024).

Terdapat berbagai macam patogen yang menyebabkan pneumonia, salah satunya yaitu bakteri. Bakteri yang paling sering menjadi penyebab pneumonia meliputi *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, dan Staphylococcus aureus.* Pasien yang diduga mengalami pneumonia bakteri harus mendapat terapi antibiotik yang tepat dan diberi sesegera mungkin. Pedoman merekomendasikan kombinasi antibiotik ß-laktam dan ß-laktamase inhibitor, terutama sulbaktam-ampisilin (SAM) dan seftriakson sebagai terapi awal. Namun diagnosis pneumonia terkadang belum pasti, pasien dengan dugaan pneumonia dapat menerima terapi antibiotik empiris untuk mencegah memburuknya kondisi pasien (Kato, 2024).

2.1.c Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae atau pneumokokus merupakan bakteri gram positif ekstraseluler yang menyerang permukaan mukosa saluran pernapasan atas manusia. Sekitar 27-65% anak-anak dan kurang dari 10% orang dewasa diketahui membawa bakteri ini tanpa gejala. *Streptococcus pneumoniae* menjadi penyebab utama bakteri infeksi seperti pneumonia, otitis media, meningitis, sepsis. Bakteri ini dapat menyebar secara lokal, terhirup ke saluran pernapasan bawah atau masuk ke dalam aliran darah yang kemudian dapat menyebabkan penyakit inflamasi invasif (Weiser *et al*., 2018).

2.1.c.1 Klasifikasi Bakteri *Streptococcus pneumoniae*



Gambar 2. Bakteri *Streptococcus pneumoniae* (Oktari *et al*., 2019)

Filum	:	*Firmicutes*
Kelas	:	*Basil*
Ordo	:	*Streptococcaceae*
Genus	:	*Streptococcus*
Spesies	:	*Streptococcus pneumoniae* (Yesilkaya *et al*., 2022)

2.1.c.2 Morfologi Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae adalah bakteri gram positif, tidak bergerak (non-motil) dan bersifat anaerob fakultatif, terdapat lebih dari 100 serotipe yang

diketahui dengan masing-masing mewakili tipe kapsul yang unik secara kimia dan genetik. Sel pneumokokus berbentuk seperti lensa atau bulat, dan tampak berpasangan atau membentuk rantai pendek. Pada media agar darah, bakteri ini membentuk koloni berwarna kehijauan akibat hemolisis alfa (α). Dapat tumbuh pada suhu 28-42 °C. Pneumokokus tidak melakukan respirasi, hanya mengandalkan fermentasi sebagai satu-satunya cara memperoleh energi (Yesilkaya *et al*., 2022).

2.1.c.3 Patogenesis dan Manifestasi Klinis Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Kemampuan *Streptococcus pneumoniae* untuk menempel pada sel epitel mukosa nasofaring merupakan langkah penting dalam proses menuju proses patogenesis. Faktor-faktor pneumokokus yang telah terbukti berperan dalam perlekatan ke sel inang adalah protein permukaan seperti adhesin permukaan pneumokokus A (PsaA) dan protein pengikat kolin A (CbpA) atau protein pneumokokus C (PspC) atau protein pengikat IgA sekresi *Streptococcus pneumoniae* (SpsA). Tahap berikutnya dalam patogenesis adalah keberhasilan bakteri menetap di paru-paru, darah, telinga tengah, sistem saraf pusat, atau area tubuh lainnya. Cara bakteri menetap tergantung pada kerentanan inang, pengaturan ekspresi gen bakteri, serta interaksi antara *Streptococcus pneumoniae* dan komponen inang (Marquart, 2021).

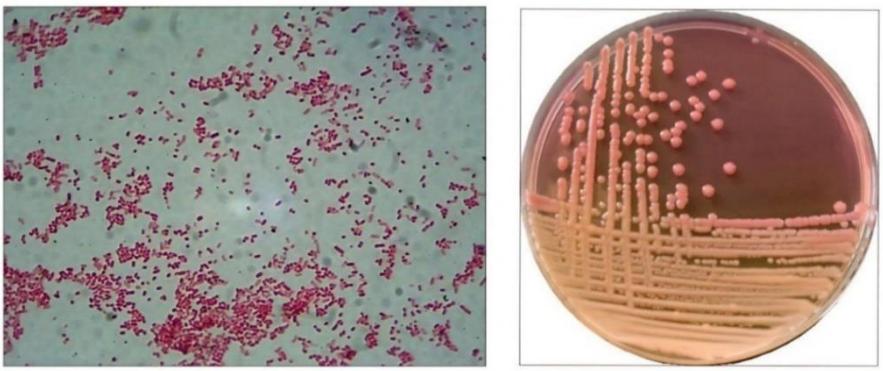
Streptococcus pneumoniae dibawa dalam nasofaring manusia oleh persentase individu yang bervariasi (lebih banyak pada anak-anak) dan dapat tetap di nasofaring atau juga dapat menyebar ke bagian tubuh lain. Penyakit-penyakit umum yang dikenal disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae* meliputi pneumonia, otitis media, meningitis, septikemia. Penularan pneumokokus antar

individu terjadi melalui kontak erat dan percikan udara, dan kolonisasi dianggap sebagai tahap terjadinya penyakit, meskipun banyak individu yang terkolonisasi tidak mengalami gejala (Marquart, 2021).

2.1.d Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri gram negatif yang menjadi penyebab utama sejumlah infeksi serius, termasuk infeksi saluran pernapasan seperti pneumonia, meningitis, sepsis, serta infeksi saluran kemih yang sulit diobati (Ochońska dan Brzychczy-Włoch, 2024). Dari semua infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Klebsiella,* lebih dari 95% disebabkan oleh genus *Klebsiella pneumoniae.* Kekhawatiran semakin meningkat dengan ditemukannya strain *Klebsiella pneumoniae* yang sudah bermutasi secara virulen lebih tinggi dan menjadi kebal terhadap antibiotik., yang tentunya menyulitkan pengobatannya (Huy, 2024).

2.1.d.1 Klasifikasi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*



Gambar 3. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Kinasih *et al*., 2024)

Domain	:	*Bacteria*
Filum	:	*Proteobacteria*
Kelas	:	*Gammaproteobacteria*
Ordo	:	*Enterobacterales*

Famili : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Klebsiella*

Spesies : *Klebsiella pneumoniae* (Ochońska dan Brzychczy-Włoch, 2024)

2.1.d.2 Morfologi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri berbentuk silinder yang memiliki kapsul, bersilia, tidak membentuk spora, dan berukuran antara 0,3 hingga 1 µm (lebar) dan 0,6 hingga 6 µm (panjang). *Klebsiella pneumoniae* termasuk dalam kelompok bakteri anaerob fakultatif yang tumbuh optimal pada suhu 37°C. Bakteri ini juga mampu bertahan di lingkungan tak hidup pada rentang suhu yang luas (12°C-42°C). Kemampuan untuk memecah glukosa, terutama pada suhu tinggi (hingga 44,5°C) memberikan keuntungan bagi bakteri di lingkungan tak hidup dengan menyediakan energi untuk proses-proses kehidupan penting, mendukung produksi biofilm, dan memungkinkan adaptasi sehingga bakteri dapat bertahan lebih lama di lingkungan ekstrem yang meningkatkan kemampuannya untuk menginfeksi inang baru (Ochońska dan Brzychczy-Włoch, 2024).

2.1.d.3 Patogenesis dan Manifestasi Klinis Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Patogenesis *Klebsiella pneumoniae* ditentukan oleh banyak faktor virulensi. Kehadiran faktor-faktor ini berperan dalam menyebabkan infeksi dan menimbulkan resistensi terhadap antibiotik. Faktor virulensi utama yang berperan penting dalam patogenesis infeksi yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* adalah polisakarida kapsul (CPS, antigen K) dan lipopolisakarida ((LPS, antigen O). Kedua komponen ini mempermudah bakteri untuk memasuki aliran darah dan dapat memicu syok sepsis tubuh inang (Ochońska dan Brzychczy-Włoch, 2024).

Klebsiella pneumoniae yaitu patogen paru-paru yang menyerang secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, batuk berdarah, serta infeksi yang dapat terjadi di paru-paru, rongga perut, saluran kemih, lokasi operasi, dan bakteri masuk ke dalam darah yaitu kondisi klinis umum dari *Klebsiella pneumoniae* pada manusia. Kelompok yang paling rentan terhadap infeksi *Klebsiella* adalah lansia, anak-anak, terutama individu yang memiliki sistem kekebalan tubuh lemah atau memiliki penyakit penyerta seperti diabetes, gangguan paru-paru, dan gangguan jantung (Pavan *et al*., 2022).

2.1.e Mekanisme Kerja Antibiotik

1. Menghambat sintesis dinding sel

Mekanisme penghambatan dinding sel bakteri dilakukan dengan menargetkan proses sintesis peptidoglikan. Penghambatan terjadi melalui pengikatan enzim yang membentuk jembatan silang antar rantai peptida yang mengganggu tahap akhir sintesis peptidoglikan. Penghambatan juga terjadi dengan berikatan langsung pada prekursor dinding sel yang mencegah integrasinya ke dalam struktur peptidoglikan yang matang sehingga proses pembentukan dinding sel terhenti.

2. Merusak integritas membran sel

Mekanisme kerusakan integritas membran sel bakteri terjadi melalui interaksi langsung dengan komponen lipid dari membran, terutama fosfolipid yang bermuatan negatif. Interaksi ini menyebabkan terganggunya struktur membran dan terbentuknya saluran tidak normal yang membuat kebocoran membran. Kerusakan ini pada akhirnya menyebabkan lisis dan kematian bakteri.

3. Menghambat sintesis asam nukleat

Mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat terjadi melalui gangguan terhadap proses replikasi DNA dan transkripsi RNA. Melibatkan pengikatan senyawa antimikroba pada enzim kunci yang berperan dalam penggandaan dan pembacaan materi genetik. Akibatnya proses penggandaan dan penyalinan informasi genetik terganggu sehingga bakteri tidak dapat melakukan sintesis asam nukleat untuk kelangsungan hidupnya.

4. Menghambat sintesis protein

Mekanisme penghambatan sintesis protein pada bakteri terjadi melalui pengikatan senyawa antimikroba pada subunit ribosom, terutama bagian yang berperan dalam proses translasi. Ikatan ini mengganggu kemampuan ribosom untuk menerima tRNA yang membawa asam amino sehingga proses penerjemahan mRNA menjadi rantai polipeptida terhenti yang menyebabkan kematian sel bakteri (Baran *et al*., 2023).

2.1.f Metode Pengujian Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan 2 macam metode, yaitu metode dilusi dan metode difusi. Tujuan metode dilusi secara umum yaitu untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), sedangkan tujuan metode difusi secara umum yaitu untuk mengetahui sensitivitas suatu bakteri terhadap antibiotik.

1. Metode Dilusi

Metode dilusi terdiri dari dilusi agar solid dan dilusi cair. Metode dilusi agar solid merupakan prosedur yang dilakukan dengan mencampurkan antibakteri

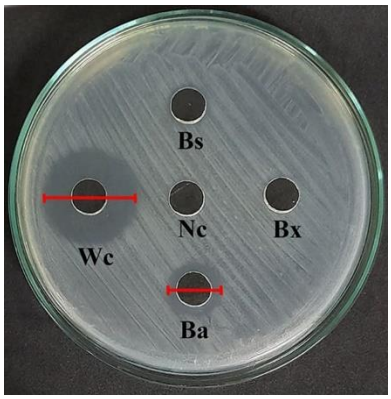
ke dalam media agar yang telah diinokulasi bakteri, dan sering digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Sementara itu metode dilusi cair umum digunakan di berbagai bidang seperti mikrobiologi klinis dan industri farmasi untuk memperkirakan jumlah mikroorganisme dalam sampel melalui pengenceran bertingkat dan penanaman pada media.

2. Metode Difusi

Metode difusi terdiri dari difusi sumuran dan difusi cakram.

a. Difusi Sumuran

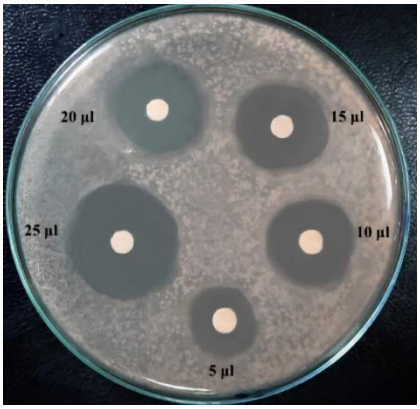
Metode difusi sumuran merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri, terutama dari bahan alami seperti tanaman. Prinsipnya, permukaan agar terlebih dahulu diinokulasi dengan mikroba, lalu dibuat lubang berdiameter 6–8 mm secara aseptis untuk menampung larutan uji, kontrol positif, dan kontrol negatif. Larutan uji dimasukkan ke dalam lubang, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam atau sesuai kebutuhan mikroba uji. Zat antibakteri akan berdifusi ke dalam agar dan membentuk zona bening di sekitar lubang sebagai tanda penghambatan pertumbuhan mikroba.



Gambar 4. Metode Difusi Sumuran (Keeratikunakorn *et al*., 2023)

b. Difusi Cakram

Metode difusi cakram adalah teknik yang terstandarisasi dan banyak digunakan di laboratorium untuk menguji kepekaan bakteri terhadap antibiotik. Prinsipnya inokulum bakteri sekitar dioleskan ke permukaan agar, lalu cakram antibiotik dengan konsentrasi tetap ditempatkan di atasnya. Setelah diinkubasi selama 16–24 jam pada suhu 35–37°C, zona bening yang terbentuk di sekitar cakram diukur. Ukuran zona ini menunjukkan tingkat kepekaan bakteri terhadap antibiotik (Nurul dkk., 2023).



Gambar 5. Metode Difusi Cakram (Kortam *et al*., 2023)

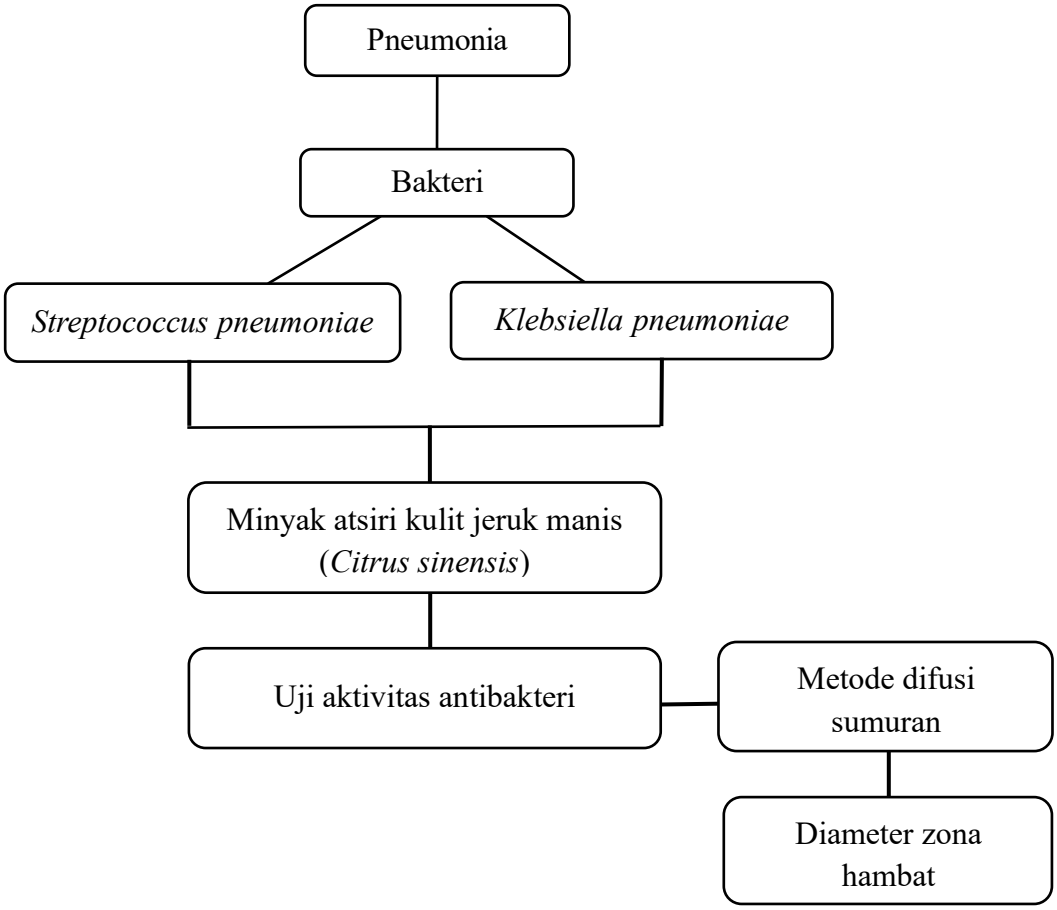
2.1.g Media *Triptone Soy Agar* (TSA)

Media *Triptone Soy Agar* (TSA) merupakan salah satu media yang dapat digunakan untuk mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Media TSA mengandung agar, *tryptone*, *soytone*, dan *sodium chloride*. Media ini umum digunakan untuk menumbuhkan dan mengisolasi bakteri, baik yang membutuhkan kondisi khusus maupun yang tidak. TSA juga cocok digunakan untuk membiakkan bakteri yang tumbuh dalam kondisi aerob dan anaerob (Muhammad dan Widayati, 2024).

2.1.h Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) adalah salah satu media yang sering digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Media ini mengandung *beef extract* sebagai sumber protein, *casein hydrolysate* yang membantu pertumbuhan bakteri, pati sebagai sumber energi sekaligus menyerap racun dari bakteri, serta agar yang membuat media menjadi padat. MHA sering dipilih untuk uji antibakteri karena direkomendasikan oleh *World Health Organization* (WHO) dan *Food and Drug Administration* (FDA) (Primadiamanti dkk., 2022).

3.4 Kerangka Berpikir



Gambar 6. Kerangka Berpikir

3.4 Hipotesis

H0 = Minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*

H1 = Minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli – Oktober 2025 di Laboratorium Biologi Farmasi STIKES ISFI Banjarmasin.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.a Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah jeruk manis (*Citrus sinensis*).

3.3.b Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) yang didapatkan dari PT. Lansida Yogyakarta.

3.4 Variabel dan Definisi Operasional

3.4.a Variabel

3.4.a.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat berdiri sendiri tanpa dipengaruhi variabel lain (Azhari et al., 2023). Variabel bebas pada penelitian ini yaitu minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dengan volume 12 µL, 25 µL, dan 50 µL.

3.4.a.1 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas (Agustian et al., 2019). Variabel terikat pada penelitian ini yaitu diameter zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae.*

3.4.b Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dengan volume 12 µL, 25 µL, dan 50 µL	Minyak atsiri kulit jeruk manis yang dibeli dari PT. Lansida Yogyakarta. Minyak atsiri ini digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri dengan volume 12 µL, 25 µL, dan 50 µL	Minyak atsiri diteteskan ke dalam lubang sumuran yang telah dibuat pada media yang sudah diinokulasi bakteri uji	Minyak atsiri kulit jeruk manis dengan volume 12 µL, 25 µL, dan 50 µL	Rasio
Diameter zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*	Diameter zona bening di sekitar lubang sumuran sebagai indikator aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*	Pengukuran zona bening di sekitar lubang sumuran menggunakan jangka sorong	Diameter zona hambat (mm)	Ordinal

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.a Alat/Instrumen dan Bahan Penelitian

3.5.a.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, batang pengaduk, gelas ukur, gelas beaker, jarum ose, lampu bunsen, kaca benda, kaca penutup, mikropipet, *cork borer set*, jangka sorong,

gunting, timbangan analitik, *hotplate*, *magnetic stirrer*, lemari pendingin, mikroskop, oven, autoklaf, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF).

3.5.a.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*), bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*, media *Triptone Soya Agar* (TSA), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), antibiotik Ceftriaxone, etanol 70%, infus NaCL, aquadest, kristal violet (Gram A), iodin (Gram B), alkohol (Gram C), dan safranin (Gram D), kertas perkamen, kertas pembungkus, kapas, *aluminium foil*, *blue tip*, *yellow tip,* spidol, kertas label, masker, sarung tangan.

3.5.b Jalannya Penelitian

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

   Alat seperti jarum ose disterilkan menggunakan etanol 70% dan kemudian dilewatkan diatas api bunsen. Media disterilkan dengan sterilisasi basah atau menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang tahan pemanasan disterilkan dengan sterilisasi kering atau menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam (Wulandari dkk., 2022) (Azizah dkk., 2020).

2. Pembuatan Media *Triptone Soya Agar* (TSA)

   Pembuatan media TSA dilakukan dengan menimbang TSA sebanyak 2,4 gram dan dilarutkan dalam 60 ml aquadest di dalam erlenmeyer. Larutan dipanaskan diatas *hotplate* hingga larut., kemudian larutan diangkat dan mulut erlenmeyer ditutup rapat dengan kapas dan *alumunium foil*, terakhir

media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Arfiandi dan Tumbol, 2020).

3. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

   Pembuatan media MHA dilakukan dengan menimbang MHA sebanyak 7,6 gram dan dilarutkan dalam 200 ml aquadest di dalam erlenmeyer. Larutan dipanaskan diatas *hotplate* hingga larut., kemudian larutan diangkat dan mulut erlenmeyer ditutup rapat dengan kapas dan *alumunium foil*, terakhir media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Ngantung dkk., 2017).

4. Peremajaan Bakteri

   Peremajaan biakan murni bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* dilakukan dengan cara menggoreskan zig-zag masing-masing satu ose secara aseptis pada tabung reaksi yang telah berisi media TSA padat, terakhir tabung reaksi ditutup rapat dengan kapas dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Yustian dkk., 2025).

5. Pewarnaan Gram

   Bakteri uji yang telah diremajakan diambil satu ose secara aseptis diletakkan di atas kaca objek dan dilakukan fiksasi di atas nyala bunsen. Pada preparat diteteskan 2 tetes larutan kristal violet (Gram A), didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan aquadest dan dikeringkan. Diteteskan 3 tetes larutan iodin (Gram B), didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan aquadest dan dikeringkan. Preparat dilunturkan dengan alkohol (Gram C) sebanyak 3 tetes selama 20 detik, dicuci dengan aquadest dan dikeringkan. Diteteskan

pewarna safranin (Gram D) dan didiamkan selama 15 detik, dan bagian bawah kaca objek dikeringkan. Terakhir diamati bentuk, warna, dan pengecatan menggunakan mikroskop (Nurbaiti dkk., 2016).

6. Pembuatan Larutan *Mc Farland* 0,5 (1,5 x 10^8 CFU/ml)

   Larutan *Mc Farland* digunakan sebagai standar kekeruhan dalam pembuatan suspensi bakteri uji. Untuk membuat larutan *Mc Farland* 0,5 digunakan campuran berupa 0,05 ml larutan $BaCl_2$ 1% dan 9,95 ml larutan H_2SO_4 1%. Kedua larutan tersebut kemudian dicampur dan dihomogenkan menggunakan vortex hingga tercampur merata (Yustian dkk., 2025).

7. Pembuatan Suspensi Antibakteri

   Bakteri uji yang telah diremajakan diambil menggunakan ose steril, kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan fisiologis NaCl 0,9%, hingga diperoleh tingkat kekeruhan yang setara dengan standar larutan *Mc Farland* (Sri Zerita Azlin dkk., 2023).

8. Penyiapan Larutan Kontrol Positif

   Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik Ceftriaxone. Sebanyak 1 gram serbuk Ceftriaxone injeksi dilarutkan terlebih dahulu dengan 10 ml aqua pro injeksi, kemudian dihomogenkan hingga semua partikel terlarut sempurna (Susanti dkk., 2022).

9. Pengujian Aktivitas Antibakteri

   a. Penyiapan

      Media MHA sebanyak 20 ml dituangkan ke dalam cawan petri dan ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 200 µL. Proses ini dibuat

dengan replikasi tiga kali dan kemudian media dibiarkan memadat. Cawan petri dibuka secara aseptis dan dibuat lubang sumuran menggunakan *cork borer* dengan jumlah dan letak lubang sesuai kebutuhan penelitian.

b. Pengujian

Masing-masing lubang sumuran diisi dengan minyak atsiri yang diuji aktivitas antibakterinya dengan variasi volume 12 µL, 25 µL, dan 50 µL, serta lubang sumuran terakhir diisi dengan senyawa kontrol positif berupa antibiotik Ceftriaxone volume 10 µL. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Korompis dkk., 2017).

10. Pengukuran Zona Hambat

Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dan hasil pengukuran dinyatakan dalam bentuk satuan milimeter (mm). Diameter zona hambat yang terukur kemudian dirata-ratakan dan dikategorikan sesuai kategori zona hambat.

Rumus perhitungan zona hambat : $\frac{Dv+Dh}{2}$ x Ds

Keterangan :

Dv : Diameter vertikal

Dh : Diameter horizontal

Ds : Diameter sumuran (Rahmah dkk., 2024).

Berikut kategori zona hambat menurut (Sakul dkk., 2020)

Tabel 2. Kategori Zona Hambat

Diameter zona hambat (mm)	Kategori
<5	Lemah
5-10	Sedang
10-20	Kuat
>20	Sangat kuat

3.6 Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan setelah mengumpulkan hasil pengukuran dan perhitungan diameter zona hambat. Data diameter zona hambat yang didapat dilakukan analisis dengan program IBM SPSS, yaitu berupa uji normalitas untuk memastikan apakah data zona hambat terdistribusi normal dan dilakukan pula uji homogenitas untuk mengetahui keseragaman data zona hambat. Jika persyaratan kedua uji terpenuhi maka analisis dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* untuk mengetahui pengaruh efektivitas minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dengan variasi volume 12 µL, 25 µL, dan 50 µL terhadap zona hambat bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae.*

3.7 Jadwal Penelitian

Tabel 3. Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	Waktu Pelaksanaan							
		Apr	Mei	Jun	Jul	Agust	Sept	Okt	Nov
1	Penentuan dan pengajuan judul								
2	Penyusunan proposal								
3	Ujian seminar proposal								
4	Uji aktivitas antibakteri								

5	Pengolahan dan analisis data								
6	Penyusunan laporan hasil								
7	Ujian seminar hasil								

DAFTAR PUSTAKA

Agustian, I., Saputra, H. E., & Imanda, A. (2019). Pengaruh Sistem Informasi Manajemen Terhadap Peningkatan Kualitas Pelayanan di PT. Jasa Raharja Putra Cabang Bengkulu. *Profesional: Jurnal Komunikasi dan Administrasi Publik*, *6*(1).

Arfiandi, & Tumbol, R. A. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dibudidayakan di Kecamatan Dimembe Kabupaten Minahasa Utara Tahun 2019. *e-Journal Budidaya Perairan*, *8*(1).

Asokan, S., Jacob, T., Jacob, J., AlSosowaa, A. A., Cherian, T., Peijnenburg, W. J. G. M., & Vijayan, S. (2025). *Klebsiella Pneumoniae*: A Growing Threat in the Era of Antimicrobial Resistance. *The Microbe*, *7*.

Azhari, E., Saleh, L. M., & Marantika, M. (2023). Analisis Faktor Penyebab Keterlambatan Proyek Pembangunan Gedung Laboratorium Terpadu dan Perpustakaan MAN 1 Maluku Tengah. *Journal Agregate*, *2*(2).

Azizah, M., Lingga, L. S., & Rikmasari, Y. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graviolens L.*) dan Madu Hutan terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Penyakit Kulit. *Jurnal Penelitian Sains*, *22*(1), 37.

Baran, A., Kwiatkowska, A., & Potocki, L. (2023). Antibiotics and Bacterial Resistance-a Short Story of an Endless Arms Race. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(6).

Chen, C.-H., Chen, C.-L., Su, L.-H., Chen, C.-J., Tsai, M.-H., & Chiu, C.-H. (2025). The Microbiological Characteristics and Diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* Infection in the Conjugate Vaccine Era. *Taylor & Francis*, *21*(1).

Favela-Hernández, J., González-Santiago, O., Ramírez-Cabrera, M., Esquivel-Ferriño, P., & Camacho-Corona, M. (2016). Chemistry and Pharmacology of *Citrus sinensis*. *Molecules*, *21*(2), 247.

Huy, T. X. N. (2024). Overcoming *Klebsiella pneumoniae* Antibiotic Resistance: New Insights Into Mechanisms and Drug Discovery. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, *13*(1), 13.

Kato, H. (2024). Antibiotic Therapy for Bacterial Pneumonia. *Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences*, *10*(1), 45.

Keeratikunakorn, K., Kaewchomphunuch, T., Kaeoket, K., & Ngamwongsatit, N. (2023). Antimicrobial Activity of Cell Free Supernatants from Probiotics Inhibits Against Pathogenic Bacteria Isolated from Fresh Boar Semen. *Scientific Reports*, *13*(1).

Kemenkes. (2024). Profil Kesehatan Indonesia 2023. *Kementerian Kesehatan RI*.

Kinasih, K. N., Mustika, Y. R., Puspitasari, Y., Tyasningsih, W., Agustin, A. L. D., Kurniawan, S. C., Hasib, A., Waruwu, Y. K. K., & Silaen, O. S. M. (2024). Molecular Detection of *Klebsiella pneumoniae* Producing Extended-spectrum Beta-lactamase Isolated from Bat Feces from the Tanjung Ringgit Bat Cave, Lombok Island, Indonesia. *International Journal of One Health*, 133–140.

Korompis, T. T., Mambo, C. D., & Nangoy, E. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Callyspongia aerizusa* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal e-Biomedik*, *5*(2).

Kortam, Y. G., Abd El-Rahim, W. M., Khattab, A. E.-N. A., Rebouh, N. Y., Gurina, R. R., Barakat, O. S., Zakaria, M., & Moawad, H. (2023). Enhancing the Antibiotic Production by Thermophilic Bacteria Isolated from Hot Spring Waters via Ethyl Methanesulfonate Mutagenesis. *Antibiotics*, *12*(7).

Li, L., Ma, J., Yu, Z., Li, M., Zhang, W., & Sun, H. (2023). Epidemiological Characteristics and Antibiotic Resistance Mechanisms of *Streptococcus pneumoniae*: An Updated Review. *Microbiological Research*, *266*.

Marquart, M. E. (2021). Pathogenicity and Virulence of *Streptococcus pneumoniae*: Cutting to the Chase on Proteases. *Virulence*, *12*(1), 766–787.

Mohammed, I. O., Alrasheid, A. A., & Hussein Ayoub, S. M. (2024). GC-MS Analysis and Study of the Antimicrobial Activity of *Citrus paradisi, Citrus aurantifolia,* and *Citrus sinensis* Peel Essential Oils as Hand Sanitizer. *International Journal of Microbiology*, *2024*(1).

Mojo, T., Sutrisno, & Marfuah, S. (2024). Chemical Content and Pharmacology of Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Fruit Peel: A Review. *E3S Web of Conferences*, *481*.

Muhammad, A., & Widayati, S. (2024). Komparasi Media Kultur Bakteri Pemeriksaan Angka Kuman Ruang pada Metode Settle Plate. *Berkala Ilmiah Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat (Scientific Periodical Journal Of Medicine And Public Health)*, *2*(2).

Ngantung, A., Bara, R., & Sumilat, D. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri dari Spons *Dictyonella funicularis* dan *Phyllospongia lamellosa* yang Diambil pada Perairan Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, *4*(2), 10.

Nurbaiti, Rosyidi, A., & Ali, M. (2016). Skrening Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Usus Ayam Broiler sebagai Kandidat Probiotik untuk Unggas. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia*, *2*, 144–149.

Nurul, A., Setiawan, I., Yusa, D., Trisna, D., Halisa, N., Ekawati, O., Umi, Y., & Fanya, Z. (2023). Tinjauan Artikel: Uji Mikrobiologi. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, *12*, 31–36.

Ochońska, D., & Brzychczy-Włoch, M. (2024). *Klebsiella pneumoniae*–Taxonomy, Occurrence, Identification, Virulence Factors and Pathogenicity. *Advancements of Microbiology*, *63*(3), 157–175.

Ogo, O., Hembafan, N., Amokaha, R., Jeremiah, O., & Inalegwu, B. (2024). Characterization and antioxidant activity of peel extracts from three varieties of *Citrus sinensis*. *Heliyon*, *10*(7).

Oktari, A., Vanawati, N., & Kurniawati, U. I. (2019). The Optimization of Human Blood Agar (HBA) for *Streptococcus pneumoniae* Growth. *Journal of Physics: Conference Series*, *1280*(2).

Pavan, H. K., Shreevatsa, B., Dharmashekara, C., Shruthi, G., Prasad, K. S., S Patil, S., & Shivamallu, C. (2022). Review of Known and Unknown Facts of *Klebsiella pneumoniae* and its Relationship with Antibiotics. *Biomedical and Pharmacology Journal*, *15*(2), 643–650.

Primadiamanti, A., Elsyana, V., & Savita, C. R. (2022). Aktivitas Antibakteri Pelepah Pisang Mas (*Musa acuminata Colla*), Pisang Kepok (*Musa x paradisiaca L*) dan Pisang Kluthuk (*Musa balbisiana Colla*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, *9*(1), 539–548.

Rahmah, A. F., Arma, U., Lestari, C., Edrizal, E., & Zia, H. K. (2024). Uji Zona Hambat Ekstrak Metanol Teripang Putih (*Holothuria scabra*) Mentawai terhadap *Streptococcus sanguinis* pada Stomatitis Aftosa Rekuren secara in Vitro: Studi Eksperimental. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, *8*(1), 71.

Sakul, G., Simbala, H. E. I., & Rundengan, G. (2020). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Pangi (*Pangium edule Reinw. Ex Blume*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmacon*, *9*(2), 275.

Salam, Md. A., Al-Amin, Md. Y., Salam, M. T., Pawar, J. S., Akhter, N., Rabaan, A. A., & Alqumber, M. A. A. (2023). Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare*, *11*(13).

Sri Zerita Azlin, Wahyu Margi Sidoretno, & Asiska Permata Dewi. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Matoa (*Pometia Pinnata J.R & G. Forst*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *JFarm - Jurnal Farmasi*, *1*(1), 30–41.

Susanti, E., Andriani, L. L., & Rahmah, M. (2022). Uji Sensitivitas Antibakteri Sediaan Injeksi Ceftriaxone Generik terhadap *Salmonella typhi*. *Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)*, *7*(1), 9–13.

Weiser, J. N., Ferreira, D. M., & Paton, J. C. (2018). *Streptococcus pneumoniae*: Transmission, Colonization and Invasion. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(6), 355–367.

Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S., & Sayekti, R. S. (2022). Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, *4*(2), 16.

Yesilkaya, H., Oggioni, M. R., & Andrew, P. W. (2022). *Streptococcus pneumoniae*: Captain of the Men of Death and Financial Burden. *Microbiology*, *168*(12).

Yohanes, R., Geremew, T., Tafese, T., & Endale AnniSa, M. (2023). Antibacterial and Antioxidant Activity of Compounds from *Citrus sinensis* Peels and in Silico Molecular Docking Study. *International Journal of Secondary Metabolite*, *10*(3), 437–458.

Yustian, A. A., Darsono, P. V., Hakim, A. R., & Mahdiyah, D. (2025). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mahang (*Macaranga triloba (Thunb.) Mull. Arg*) terhadap *Propionibacterium acnes*. *Sains Medisina*, *3*(3).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Media

Media *Tryptone Soya Agar* (TSA) = $\frac{40 \text{ gram x } 60 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 2{,}4 \text{ gram}$

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) = $\frac{38 \text{ gram x } 200 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 7{,}6 \text{ gram}$