

## SIFAT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 90% BATANG SEREH (*CYBOPOGON CITRATUS*) DENGAN KULIT BUAH DELIMA (*PUNICA GRANATUM L.*) TERHADAP BAKTERI *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

### COMBINATION EFFECT OF 90% ETHANOL EXTRACT OF *CYBOPOGON CITRATUS* AND *PUNICA GRANATUM L.* AGAINST *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*)

Suci Ahda Novitri<sup>1\*</sup>, Neng Fisher Kurniati<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah  
Jakarta

<sup>2</sup> Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

\*Email: [suci.ahda@uinjkt.ac.id](mailto:suci.ahda@uinjkt.ac.id)

#### ABSTRAK

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu bakteri patogen yang menginfeksi manusia. Peningkatan prevalensi infeksi akan berpotensi terjadinya resistensi terhadap antibiotik sehingga dibutuhkan mencari alternatif lain sebagai antibakteri dari bahan alam. Bahan alam yang digunakan pada penelitian ini adalah batang serih dan kulit buah delima. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak uji (ekstrak etanol 90% batang serih dan kulit buah delima) terhadap *Klebsiella pneumoniae*, serta pengaruhnya jika dikombinasikan. Penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Mikroba (KBM) ekstrak uji terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode mikrodilusi. Penentuan diameter hambat ekstrak uji terhadap bakteri uji menggunakan metode difusi agar. Kemudian pengujian kombinasi ekstrak uji dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar pita kertas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 90% batang serih dan kulit buah delima memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan nilai KHM secara berurutan adalah 4096 µg/mL dan 256 µg/mL dan nilai KBM kedua ekstrak uji adalah >4096 µg/mL. Kombinasi ekstrak uji terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan sifat sinergis. Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak uji memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan memiliki sifat sinergis jika dikombinasikan.

**Kata kunci:** *Klebsiella pneumoniae*; batang serih; kulit buah delima; KHM; KBM

#### ABSTRACT

*Klebsiella pneumoniae* is one of the pathogenic bacteria that infect humans. The increasing prevalence of infection will potentially lead to resistance to antibiotics, so it is necessary to look for other alternatives as antibacterial from natural ingredients. The natural ingredients used in this study were lemongrass stalk and pomegranate peel. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the test extract (90% ethanol extract of lemongrass stalk and pomegranate peel) against *Klebsiella pneumoniae*, and their effect when combined. Determination of the value of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Microbial Bactericidal Concentration (MBC) of the test extract against *Klebsiella pneumoniae* bacteria using the microdilution method. Determination of the inhibition diameter of the test extract against the test bacteria using the agar diffusion method. Then the test extract combination test was carried out using the paper tape agar diffusion method. The

results of this study showed that 90% ethanol extract of lemongrass stalk and pomegranate peel had antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* with MIC values respectively 4096 g/mL and 256 g/mL and the MBC value of both test extracts was >4096 g/mL. The combination of test extracts against *Klebsiella pneumoniae* bacteria showed synergistic properties. It can be concluded that the test extract has antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* and has synergistic properties when combined.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*; lemongrass stalk; pomegranate peel; MIC; MBC

## PENDAHULUAN

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah salah satu bakteri gram negative penyebab *Healthcare Associated Infection* (HAIs) seperti pneumonia, infeksi saluran kemih, dan sepsis (Dewi et al., 2019). Beberapa penelitian melaporkan bahwa angka kasus terjadinya *Healthcare Associated Infection* (HAIs) meningkat disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Virawan et al., 2020). Prevalensi terjadinya infeksi *Klebsiella pneumoniae* di beberapa negara yaitu 13 % di USA, 64,2% di Negeria, 5% di Pakistan, 14,1% di Singapur, 17,4% di Denmark dan 33,9% di India (Alebachew Woldu, 2016). Di Indonesia, prevalensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL di Rumah Sakit Kariadi sebesar 37,64% dari 85 isolat pada bulan Oktober 2014-Mei 2015 (Fitri et al., 2015). Banyak antibiotik yang dilaporkan mengalami resistensi terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Virawan et al., 2020). Banyaknya antibiotik yang mengalami resistensi akan dibutuhkan alternatif lain sebagai antibakteri dari bahan alam.

Bahan alam yang digunakan pada penelitian ini adalah batang serih dan kulit buah delima. Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak metanol batang serih memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada metode difusi agar (Subramaniam et al., 2020). Ekstrak etanol daun serih memiliki diameter daya hambat terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Anes et al., 2017). Sedangkan pada penelitian tentang kulit buah delima, ekstrak etanolnya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode difusi agar (Chaudhary & Nandan Rahul, 2017). Penelitian yang

dilakukan oleh Malviya et al., (2014), ekstrak etanol kulit buah delima juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* yang dibuktikan dengan adanya diameter daya hambat (Malviya et al., 2014).

Pada pengembangan antibakteri dari bahan alam, kombinasi ekstrak etanol batang serih dan kulit buah delima belum ditemukan datanya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang serih dan kulit buah delima terhadap *Klebsiella pneumoniae*, serta pengaruhnya jika dikombinasikan.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Ekstrak etanol 90% kulit buah delima, batang serih, etanol 90%, alcohol 70%, aquadest, *Muller-Hinton Agar* (MHA), *Muller-Hinton Broth* (MHB), tetrasiklin, etil asetat, amil alkohol, serbuk magnesium, asam klorida, natrium hidroksida, natrium asetat, besi (III) klorida, gelatin, eter, kloroform, asam sulfat, amoniak, asam asetat glasial, kalium iodida merupakan bahan yang digunakan pada penelitian ini.

### Pembuatan Ekstrak dan Karakterisasi Ekstrak

Batang serih (Lembang, Jawa Barat) segar disortir, dibersihkan, dirajang, dikeringkanginkan dan dihaluskan sehingga menjadi serbuk simpilisia. Serbuk simpilisia di maserasi menggunakan pelarut etanol 90% sehingga di peroleh ekstrak etanol cair. Ekstrak etanol cair dikentalkan dengan menggunakan rotavapor, dipanaskan lagi di atas penangas air (suhu 60°C) hingga kental (Departemen Kesehatan RI, 2000). Ekstrak etanol kulit buah

delima yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak dari penelitian sebelumnya (Azreen, 2015).

Ekstrak uji yang digunakan dilakukan karakterisasi ekstrak, yaitu susut pengeringan, kadar sari larut etanol dan air, bobot jenis, rendemen dan penapisan fitokimia (uji alkaloid, flavonoid, tannin, kuinon, steroid/triterpenoid, saponin)

Uji Aktivitas Antibakteri (CLSI, 2012)

Bakteri *Klebsiella pneumonia* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Analisis, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung. Bakteri uji diinokulasi dengan cara digoreskan pada media agar (MHA) miring menggunakan jarum ose bundar, diinkubasi pada inkubator ( $37^{\circ}\text{C}$ ) selama 24 jam. Bakteri yang tumbuh diambil dengan jarum ose bundar dan disuspensikan pada MHB sebanyak 5 mL, diinkubasi ( $37^{\circ}\text{C}$ ) selama 24 jam. Suspensi bakteri uji kemudian diencerkan dengan MHB hingga didapatkan rentang absorbansi 0,08-0,13 ( $1-2 \times 10^8$  CFU/mL) yang setara dengan 0,5 McFarland menggunakan spektrofotometer UV-Vis ( $\lambda=625$  nm). Setelah itu, diencerkan kembali hingga diperoleh jumlah akhir bakteri kira-kira  $5 \times 10^5$  CFU/mL (rentang  $2-8 \times 10^5$  CFU/mL) pada tiap satu sumur pelat.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi (*microwell plate*) dilakukan sehingga memperoleh nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). *Microwell plate* terdiri dari 8 baris dan 12 kolom. Kolom ke-1 diisi dengan 200  $\mu\text{L}$  media MHB steril (kontrol negatif), kolom ke-2 diisi dengan 100  $\mu\text{L}$  media MHB steril dan 100  $\mu\text{L}$  suspensi bakteri uji, kolom ke-3 sampai ke-12 diisi dengan 100  $\mu\text{L}$  media MHB steril. Pada kolom ke-12 ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  larutan ekstrak uji atau antibiotik (tetrasiiklin) dengan konsentrasi tertentu, kemudian dihomogenkan. Kemudian, 100  $\mu\text{L}$  diambil dari sumur kolom ke-12, lalu dipindahkan ke sumur kolom ke-11 dan ulangi hingga hasil pengenceran ekstrak uji/antibiotik telah mengisi sumur kolom ke-3. Setelah itu, suspensi bakteri dimasukkan ke dalam semua sumur (kecuali kontrol negatif

pada sumur ke-1). *Microwell plate* diinkubasi ( $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama 18-24 jam. Nilai KHM ditentukan dengan tidak adanya endapan bakteri pada dasar sumur (jernih) sebagai indikasi terhambatnya pertumbuhan bakteri.

Konsentrasi larutan sumur yang ditetapkan sebagai nilai KHM dipipet sebanyak 5  $\mu\text{L}$ , digoreskan ke media MHA steril yang telah padat di cawan petri dan diinkubasi ( $37^{\circ}\text{C}$ ) selama 24 jam. Media MHA yang permukaannya tidak ada pertumbuhan bakteri di tetapkan sebagai nilai KBM.

Setelah diperoleh nilai KHM dan KBM, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan mengukur diameter hambat. Sebanyak 50  $\mu\text{L}$  suspensi bakteri (yang sudah disiapkan sebelumnya) dimasukkan ke dalam 15 mL MHA steril yang belum memadat, dihomogenkan, lalu dituangkan ke dalam cawan petri steril dan tunggu sampai memadat. Cakram kertas (diameter=5mm) dicelupkan ke dalam ekstrak uji/tetrasiiklin (yang disuspensikan kedalam DMSO 10%) dengan konsentrasi 2xKHM, 4xKHM dan 8xKHM, kemudian dikeringkan dan diletakkan di atas MHA (yang mengandung bakteri). Cakram kertas juga dicelupkan ke dalam campuran MHB+DMSO 10% (kontrol negatif) yang terbukti tidak memiliki hambatan. Cawan petri kemudian diinkubasi ( $37^{\circ}\text{C}$ ) selama 18-24 jam. Daerah bening yang berada di sekitar cakram kertas sehingga diperoleh diameter hambatnya.

Penentuan sifat kombinasi ekstrak uji dilakukan dengan metode difusi agar pita kertas (Lorian & Fodor, 1974). Bakteri uji disuspensikan ke MHB, diinkubasikan ( $37^{\circ}\text{C}$ ) selama 18-24 jam, diencerkan sampai jumlah bakteri yang ditentukan. Sebanyak 50  $\mu\text{L}$  suspensi bakteri yang sudah diencerkan tersebut dimasukkan kedalam tabung yang berisi 15 mL MHA steril yang belum memadat, lalu dihomogenkan. Campuran tersebut masukkan ke dalam cawan petri steril dan biarkan hingga memadat. Setelah memadat, satu pita dicelupkan kedalam larutan ekstrak etanol batang sereh dan satu pita lagi dicelupkan dalam larutan ekstrak etanol kulit buah delima, lalu dikeringkan. Pita kertas yang telah kering ini diletakkan di atas MHA (yang

mengandung bakteri) dengan mempertemukan salah satu sisi masing-masing sisi pita kertas sehingga membentuk sudut  $90^{\circ}$ . Cawan petri diinkubasikan ( $37^{\circ}\text{C}$ ) selama 18-24 jam, kemudian amati hambatan di pertemuan kedua pita kertas tersebut.

## HASIL

Ekstrak uji yang diperoleh dilakukan karakterisasi ekstrak meliputi susut pengeringan, kadar sari larut air dan etanol, bobot jenis, rendemen dan penapisan fitokimia (alkaloid, flavonoid, kuinon, tannin, saponin, steroid/triterpenoid). Hasil karakterisasi ekstrak etanol batang serih pada penelitian ini adalah susut pengeringan (38,84%), kadar sari larut air (5,86%), kadar sari larut etanol (6,16%), bobot jenis (1,16 g/mL), rendemen (10,62%) dan penapisan fitokimia (positif alkaloid, flavonoid, kuinon, tannin dan steroid/triterpenoid). Sedangkan pada ekstrak etanol kulit buah delima dilakukan oleh Azreen (2015) dengan hasil susut pengeringan (12,21%), kadar sari larut air (23%), kadar sari

larut etanol (15%), bobot jenis (1,59 g/mL) dan penapisan fitokimia (positif alkaloid, flavonoid dan tannin).

Penentuan nilai KHM dan KBM ekstrak etanol batang serih dan kulit buah delima dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi dengan hasil pada tabel 1.

Setelah diperoleh nilai KHM ekstrak tanaman uji, penentuan diameter hambat ekstrak batang serih dan kulit buah delima terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dilakukan. Cakram yang digunakan memiliki diameter sebesar 5 mm. Cakram yang dicelupkan ke dalam media MHB dan DMSO10% digunakan sebagai kontrol negatif, media MHB dan tetrasiklin digunakan sebagai kontrol positif, MHB dan ekstrak uji digunakan sebagai perlakuan uji. Hasil diameter hambat ekstrak uji dengan konsentrasi 2xKHM, 4xKHM dan 8xKHM terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat dilihat pada tabel 2. Hasil kombinasi ekstrak etanol batang serih dan kulit buah delima terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan sifat sinergis.

**Tabel 1. Nilai KHM dan KBM Ekstrak Etanol Batang Serih dan Kulit Buah Delima terhadap *Klebsiella pneumoniae***

Bakteri	KHM dan KBM ( $\mu\text{g/mL}$ )	Nilai KHM dan KBM ( $\mu\text{g/mL}$ )		
		Ekstrak kulit delima	Ekstrak etanol buah batang serih	Ekstrak etanol Tetrasiklin
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KHM	256	4096	2
	KBM	>4096	>4096	32

**Tabel 2. Diameter hambat Ekstrak Uji terhadap *Klebsiella pneumoniae***

Konsentrasi	Diameter hambat ekstrak uji (mm)		
	Ekstrak buah (KHM=256 $\mu\text{g/mL}$ )	Ekstrak etanol kulit delima	Ekstrak etanol batang serih (KHM=4096 $\mu\text{g/mL}$ )
2 KHM	0,0 $\pm$ 0,00	6,0 $\pm$ 0,00	9,3 $\pm$ 0,58
4 KHM	7,0 $\pm$ 0,00	6,7 $\pm$ 0,58	7,3 $\pm$ 0,58
8 KHM	9,0 $\pm$ 1,70	7,3 $\pm$ 0,58	6,0 $\pm$ 0,00



## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, karakterisasi ekstrak meliputi susut pengeringan, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, bobot jenis dan rendemen dilakukan untuk menjadi keseragaman mutu ekstrak agar memenuhi persyaratan standar ekstrak (Febriani et al., 2015). Berdasarkan hasil yang diperoleh, ekstrak uji memiliki kualitas yang baik karena berada dalam rentang yang telah ditentukan oleh BPOM dan Materi Medika Indonesia.

Pengujian skrining fitokimia ekstrak juga dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak (Agustina et al., 2017). Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol batang serih mengandung alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin dan steroid/triterpenoid. Hasil ini didukung oleh penelitian sebelumnya yaitu ekstrak etanol serai dapur (*Cymbopogon citratus*) mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin dan tanin (Pujawati et al., 2019). Sedangkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol kulit buah delima mengandung alkaloid, flavonoid dan tanin. Hasil ini di dukung oleh (Sopyan et al., 2016) , ekstrak kulit buah delima mengandung senyawa flavonoid, tanin. Adapun perbedaan yang terjadi dalam skrining fitokimia, ini disebabkan karena sumber tanaman yang digunakan memiliki perbedaan tempat tumbuh sehingga kemungkinan besar terjadi perbedaan jumlah komponen kimia.

Setelah dilakukan karakterisasi ekstrak, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang serih dan kulit buah delima terhadap *Klebsiella pneumoniae* dilakukan dengan metode mikrodilusi untuk memperoleh nilai KHM dan nilai KBM. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang serih dan ekstrak kulit buah delima memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan nilai KHM dan KBM yang dapat dilihat pada tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah delima memiliki nilai KHM yang lebih rendah dari ekstrak etanol batang serih. Pengujian dengan menggunakan metode mikrodilusi memiliki beberapa kelebihan yaitu

reproduktifitas, penggunaan bahan lebih sedikit, biaya lebih murah, mudah digunakan, kuantitatif (Jorgensen & Ferraro, 2009; Benkova et al., 2020; Langfield et al., 2004; Chen et al., 2020). Penentuan nilai KBM dilihat berdasarkan konsentrasi agar yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Selain pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi, penentuan diameter hambat ekstrak uji terhadap bakteri juga dilakukan dengan metode difusi agar. Penentuan diameter hambat dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 2xKHM, 4xKHM, dan 8xKHM. Metode ini memiliki kelebihan yaitu, biaya lebih murah, fleksibel, sederhana, reproduktifitas, mudah dalam modifikasi (Coorevits et al., 2015) (Benkova et al., 2020). Metode difusi agar membutuhkan perhatian terhadap difusibilitas senyawa yang digunakan. (Benkova et al., 2020). Senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol batang serih kebanyakan mengandung senyawa yang bersifat non polar salah satunya minyak atsiri (Matasyoh et al., 2011). Pada penelitian ini, media agar yang digunakan memiliki sifat polar sehingga senyawa nonpolar yang terkandung pada ekstrak akan sulit untuk berdifusi (Novitri & Kurniati, 2021).

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang serih dapat dikaitkan dengan kandungan senyawa metabolit seperti alkaloid, flavonoid, tannin. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun serih juga mengaitkan terhadap adanya kandungan flavonoid, alkaloid dan tannin sebagai antibakteri (Anes et al., 2017). Senyawa tannin bekerja dengan cara menghambat aktivitas enzim protease dari bakteri (Subramaniam et al., 2020). Ekstrak etanol buah delima dilaporkan bahwa senyawa elagitanin yang terkandung pada ekstrak ini diduga memiliki aktivitas antibakteri (Machado et al., 2002). Penelitian lain juga melaporkan bahwa adanya kandungan senyawa fenolik pada ekstrak etanol kulit buah delima memiliki aktivitas antibakteri (Benguiar et al., 2020).

Penentuan sifat kombinasi ekstrak uji terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*

dilakukan dengan menggunakan metode difusi pita kertas pada konsentrasi 8xKHM. Hasil kombinasi ekstrak uji terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* pada penelitian ini menunjukkan adanya perubahan diameter hambat pada sisi pertemuan pita kertas jika dibandingkan dengan diameter hambat pada sisi pita kertas yang tidak bertemu. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol batang sereh dan kulit buah delima terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* memiliki sifat sinergis.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol batang sereh dan kulit buah delima memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumonia*. Kombinasi ekstrak uji terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* memiliki sifat sinergis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W., Nurhamidah, & Handayani, D. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Banteng Jarak (*Ricinus communis* L.). *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1(2), Hlm. 117-122.
- Alebachew Woldu, M. (2016). *Klebsiella pneumoniae* and Its Growing Concern in Healthcare Settings. *Clinical and Experimental Pharmacology*, 06(01), 1–7. <https://doi.org/10.4172/2161-1459.1000199>
- Anes, U. C., Malgwi, T. S., & Dibal, M. Y. (2017). Preliminary Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Cymbopogon citratus* ( DC .) Stapf . ( Poaceae ) Leaf Ethanol. *American Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4(5), 61–66.
- Azreen, N. B. A. (2015). Antibacterial Activities of Peels of *Punica granatum* L., Rhizomes of *Zingiber officinale* L., and Leaves of *Elephantopus scaber* L. and Its Combination with Tetracycline Hydrochloride Against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. In *Skripsi*. Institut Teknologi Bandung.
- Benguiar, R., Yahla, I., Benaraba, R., Bouamar, S., & Riazi, A. (2020). Phytochemical analysis, antibacterial and antioxidant activities of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *International Journal of Biosciences (IJB)*, June. <https://doi.org/10.12692/ijb/16.6.35-44>
- Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 806–822. <https://doi.org/10.1111/jam.14704>
- Chaudhary, A., & Nandan Rahul, S. (2017). Antibacterial Activity of *Punica granatum* (Pomegranate) Fruit Peel Extract against Pathogenic and Drug Resistance Bacterial Strains. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12), 3802–3807. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.612.437>
- Chen, S. C., Liu, J. W., Wu, X. Z., Cao, W., Wang, F., Huang, J. M., Han, Y., Zhu, X. Y., Zhu, B. Y., Gan, Q., Tang, X. Z., Shen, X., Qin, X. L., Yu, Y. Q., Zheng, H. P., & Yin, Y. P. (2020). Comparison of microdilution method with agar dilution method for antibiotic susceptibility test of *Neisseria gonorrhoeae*. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1775–1780. <https://doi.org/10.2147/IDR.S253811>
- CLSI. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Coorevits, L., Boelens, J., & Claeys, G. (2015). Direct susceptibility testing by disk diffusion on clinical samples: a rapid and accurate tool for antibiotic stewardship. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 34(6), 1207–1212.



- <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2349-2>
- Departemen Kesehatan RI, D. K. R. (2000). *Parameter Standarisasi Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dewi, N., Tarini, N. M. A., & Fatmawati, N. N. D. (2019). Deteksi Gen fimH Pada Isolat Klinis Klebsiella pneumoniae Di RSUP Sanglah Denpasar. *E-Jurnal Medika*, 8(4).
- Febriani, D., Mulyanti, D., & Rismawati, E. (2015). Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*, 475–480.
- Fitri, N. N., Rusli, M., & Wahyunitisari, M. R. (2015). Antibiotic Use Is Not a Risk Factor of Infection by Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing Bacteria in Dr. Soetomo Hospital Surabaya. *Microbiology Indonesia*, 9(4), 150–156. <https://doi.org/10.5454/mi.9.4.2>
- Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749–1755. <https://doi.org/10.1086/647952>
- Langfield, R. D., Scarano, F. J., Heitzman, M. E., Kondo, M., Hammond, G. B., & Neto, C. C. (2004). Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2–3), 279–281. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.06.013>
- Lorian, V., & Fodor, G. (1974). Technique for determining the bactericidal effect of drug combinations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 5(6), 630–633. <https://doi.org/10.1128/AAC.5.6.630>
- Machado, T. D. B., Leal, I. C. R., Amaral, A. C. F., Dos Santos, K. R. N., Da Silva, M. G., & Kuster, R. M. (2002). Antimicrobial ellagitannin of *Punica granatum* fruits. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 13(5), 606–610. <https://doi.org/10.1590/S0100-06622002000500010>
- Malviya, S., Arvind, Jha, A., & Hettiarachchy, N. (2014). Antioxidant and antibacterial potential of pomegranate peel extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 4132–4137. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0956-4>
- Matasyoh, J. C., Wagara, I. N., Nakavuma, J. L., & Kiburai, A. M. (2011). Chemical composition of *Cymbopogon citratus* essential oil and its effect on mycotoxigenic *Aspergillus* species. *African Journal of Food Science*, 5(3), 138–142. <http://www.academicjournals.org/ajfs>
- Novitri, S. A., & Kurniati, N. F. (2021). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739. *Jurnal Kesehatan Medika Saintika Volume*, 12(1), 198–204.
- Pujawati, R. S., Rahmat, M., Djuminar, A., & Rahayu, I. G. (2019). Uji EFEKTIVITAS EKSTRAK SERAI DAPUR (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* METODE MAKRODILUSI. *Jurnal Riset Kesehatan*, 11(2), 267–273.
- Sopyan, I., Apriana, R., & Gozali, D. (2016). Formulasi Sediaan Losio Dari Ekstrak Kulit Buah Delima Putih (*Punica grantum* L.) Sebagai Tabir Surya. *Farmaka*, 14(1), 43–58.
- Subramaniam, G., Yew, X. Y., & Sivasamugham, L. A. (2020). Antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* against clinically important bacteria. *South African Journal of Chemical Engineering*, 34(November 2019), 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2020.05.010>
- Virawan, H., Nuryastuti, T., & Nirwati, H. (2020). Multidrugresistant *Klebsiella pneumoniae* from clinical isolates at dr.



Soeradji Tirtonegoro central hospital  
Klaten. *Jurnal Kedokteran Dan  
Kesehatan Indonesia*, 11(2), 109–120.  
[https://doi.org/10.20885/jkki.vol11.iss2.a  
rt3](https://doi.org/10.20885/jkki.vol11.iss2.art3)