

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KEMUKUS
(*Piper cubeba L.*) TERHADAP BAKTERI *METHICILLIN RESISTANT*
***Staphylococcus aureus* (MRSA)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi



Oleh:

Elysa Meilani Faradina

NIM. 1606664

PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA
2020

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KEMUKUS
(*Piper cubeba L.*) TERHADAP BAKTERI *METHICILLIN RESISTANT*
***Staphylococcus aureus* (MRSA)**

Oleh
Elysa Meilani Faradina

Sebuah skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

© Elysa Meilani Faradina 2020

Universitas Pendidikan Indonesia

Mei 2020

Hak cipta dilindungi Undang-Undang

Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya ataupun sebagian, dengan dicetak ulang, difoto kopi, atau cara lainnya tanpa izin dari penulis.

LEMBAR PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KEMUKUS (*Piper cubeba L.*)
TERHADAP BAKTERI *METHICILLIN RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA)

Oleh:
Elysa Meilani Faradina
NIM: 1606664

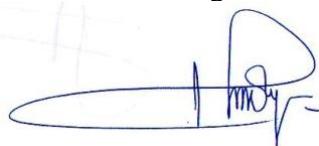
Disetujui dan disahkan oleh:

Pembimbing I,



Dr. Hj. Any Fitriani, M.Si
NIP. 1965020219911032001

Pembimbing II,



Didik Priyandoko, Ph.D
NIP. 196912012001121001

Pembimbing III,



Assoc. Prof. Dr. Yaya Rukayadi

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi,
2/6/2020



Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si
NIP. 197008112001122001

PERNYATAAN

*Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KEMUKUS (*Piper cubeba L.*) TERHADAP BAKTERI METHICILLIN RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA)**” ini beserta seluruh isinya adalah benar-benar karya saya sendiri. Saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika ilmu yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung risiko/sanksi apabila dikemudian hari ditemukan adanya pelanggaran etika keilmuan atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.*

Bandung, Mei 2020

Yang membuat pernyataan,

Elysa Meilani Faradina

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan berkah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Kemukus (*Piper cubeba L.*) terhadap Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)" dengan sungguh-sungguh dan sebaik mungkin. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Program Studi Biologi. Dalam penyusunannya, terdapat beberapa kendala, rintangan dan juga tantangan. Namun, semua hal tersebut dapat diselesaikan dengan baik berkat adanya beberapa bantuan dari berbagai pihak. Penulis sangat berterima kasih kepada kedua orang tua penulis yang selalu memberikan dukungan baik secara langsung maupun tidak langsung selama penulis menjalankan masa kuliah dan menyelesaikan skripsi. Selain kepada orang tua, dalam kesempatan ini penulis juga ingin menyampaikan rasa syukur dan mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dr. Hj. Any Fitriani, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi sekaligus dosen pembimbing akademik yang telah memberikan ilmu, arahan, bimbingan dan semangat yang begitu berarti sejak awal masa perkuliahan sampai masa pembuatan skripsi pada akhir perkuliahan.
2. Bapak Didik Priyandoko, Ph.D selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan memberikan ilmu, arahan, bimbingan dan semangat yang begitu berarti dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Assoc. Prof. Dr. Yaya Rukayadi selaku dosen pembimbing yang telah memberikan memberikan ilmu, arahan, bimbingan dan semangat yang begitu berarti dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Bambang Supriatno, M.Si selaku Ketua Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.
5. Ibu Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si selaku Ketua Program Studi Biologi Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.
6. Bapak Prof. Topik Hidayat, Ph.D selaku Kepala Laboratorium Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

7. Bapak Rahadian Deden Junasah, S.Pd selaku Kepala Laboratorium Riset Bioteknologi Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.
8. Segenap bapak dan ibu dosen Departemen Pendidikan Biologi dan staf akademik yang selalu membantu dalam memberikan fasilitas, ilmu, serta pendidikan pada penulis hingga dapat menunjang dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Sahabat perjuangan tim penelitian payung skripsi yaitu Kartini Jusanti dan Muhamad Aldi Maulana yang telah bekerja sama, saling membantu dan selalu ada di setiap langkah penelitian skripsi, juga segenap teman-teman kelas Biologi C 2016 yang telah memberikan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Wahyu Setia Widodo, S.Si yang telah turut membantu, membimbing dan memberikan motivasi yang berarti dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis berharap semoga Allah SWT senantiasa memberi balasan yang jauh lebih baik atas segala kebaikan yang telah diberikan. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi para pembaca.

Bandung, Mei 2020

Penulis

Elysa Meilani Faradina

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KEMUKUS
(*Piper cubeba L.*) TERHADAP BAKTERI *METHICILLIN RESISTANT*
***Staphylococcus aureus* (MRSA)**

ABSTRAK

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dosis dapat menimbulkan masalah resistensi terhadap bakteri infeksi. Hal tersebut terjadi pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai flora normal pada kulit manusia. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) muncul sebagai patogen nosokomial endemik dan prevalensi infeksi yang disebabkannya meningkat secara drastis. Akibat yang disebabkan oleh bakteri ini diantaranya furunkel, impetigo, osteomyelitis, tonsilitis, bronkhitis, pneumonia, endokarditis, meningoensefalitis, sampai sepsis. Oleh sebab itu, penelitian mengenai penemuan obat yang berasal dari bahan alami untuk menangani kasus resistensi bakteri perlu dilakukan. Kemukus (*Piper cubeba L.*) memiliki kandungan senyawa fenolik yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan mekanisme mendenaturasi protein di dinding sel bakteri dan lignan dengan mekanisme menghambat fungsi membran sel. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis aktivitas antibakteri dari ekstrak buah kemukus terhadap strain bakteri MRSA menggunakan metode *Disc Diffusion Assay* (DDA), *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dan *Time Kill Assay*. Hasil uji DDA membuktikan bahwa 1% ekstrak buah kemukus memiliki aktivitas antibakteri kategori kuat terhadap bakteri MRSA 172918, MRSA 176104 dan MRSA 178449 serta memiliki aktivitas antibakteri yang sedang terhadap bakteri MRSA ATCC 700699. Aktivitas penghambatan ekstrak pada konsentrasi MIC 1,25 mg/ml terhadap bakteri MRSA 172918 dan MRSA 178349, serta konsentrasi MIC 2,50 mg/ml terhadap bakteri MRSA 176104 dan MRSA ATCC 700699. Sedangkan konsentrasi MBC sebesar 2,50 mg/ml pada bakteri MRSA 172918 dan sebesar 5,00 mg/ml terhadap bakteri lainnya. Hasil *Time Kill Assay* membuktikan bahwa ekstrak buah kemukus memiliki sifat daya mematikan dengan variasi waktu dan konsentrasi yang berbeda-beda pada masing-masing bakteri. Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah kemukus berpotensi menjadi agen antibakteri bakteriostatik terhadap bakteri MRSA.

Kata kunci: Antibakteri, Antibiotik, Buah Kemukus, MRSA, Resistensi

**ANALYSIS OF ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF TAILED PAPER
BERRIES (*Piper cubeba L.*) EXTRACT AGAINST METHICILLIN
RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

ABSTRACT

The improper use of antibiotics can lead to the problems of resistance to bacterial infections. For example is the resistance of *Staphylococcus aureus* as normal flora on human skin. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) appears as an endemic nosocomial pathogen and the prevalence of infection caused by MRSA has increased dramatically. MRSA can cause boils, impetigo, osteomyelitis, tonsillitis, bronchitis, pneumonia, endocarditis, meningoencephalitis, and sepsis. Therefore the discovery of drugs from natural ingredients against MRSA is needed. Kemukus (*Piper cubeba L.*) contains phenolic compounds which are proven to have antibacterial activity against *S. aureus* by denaturing proteins in cell walls and lignans by damaging cell membranes. The aim of this study was to investigate the antibacterial activity of kemukus berries extract against MRSA by using several methods, such as the Disc Diffusion Assay (DDA), Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and Time Kill Assay. DDA results proved that 1% of kemukus extract has antibacterial activity which was strong category against strain MRSA 172918, MRSA 176104 and MRSA 178449 and has moderate antibacterial activity against strain MRSA ATCC 700699. The MIC value of the extract against MRSA 172918 and MRSA 178349 was 1.25 mg/ml, while the MIC value of the extract against MRSA 176104 and MRSA ATCC 700699 was 2.50 mg/ml. Moreover, the MBC of the extract against MRSA 172918 was 2.50 mg/ml while against several other strains of MRSA was 5.00 mg/ml. Time Kill Assay results showed that the extract had the deadly power property with different variation of time and concentrations against each bacterium. Based on the results of the experiment, it can be concluded that kemukus berries extract has the potential to be a bacteriostatic antibacterial agent against MRSA.

Key words: Antibacterial, Antibiotic, Kemukus Berries, MRSA, Resistance

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| UCAPAN TERIMA KASIH..... | v |
| ABSTRAK | vii |
| <i>ABSTRACT</i> | viii |
| DAFTAR ISI..... | ix |
| DAFTAR TABEL..... | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Pertanyaan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Batasan Masalah | 3 |
| 1.5 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.6 Manfaat Penelitian | 4 |
| 1.7 Asumsi | 4 |
| 1.8 Hipotesis | 5 |
| 1.9 Struktur Organisasi | 5 |
| BAB II AKTIVITAS ANTIBAKTERI, METODE PEMISAHAN SENYAWA, MACAM-MACAM UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI, <i>Piper cubeba L.</i> , <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)..... | 7 |
| 2.1 Aktivitas Antibakteri..... | 7 |
| 2.2 Metode Pemisahan Senyawa..... | 11 |
| 2.2 Macam-macam Uji Aktivitas Antibakteri | 12 |
| 2.3.1 <i>Disc Diffusion Assay</i> (DDA) | 13 |
| 2.3.2 <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC)..... | 15 |
| 2.3.3 <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC)..... | 15 |
| 2.3.4 <i>Uji Time Kill Assay</i> | 16 |
| 2.4 <i>Piper cubeba L.</i> (Buah Kemukus) | 17 |
| 2.5 <i>Methicillin Resistant Staphylococcus sureus</i> (MRSA) | 22 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 28 |

| | |
|--|----|
| 3.1 Jenis dan Desain Penelitian..... | 28 |
| 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian | 29 |
| 3.3 Alat dan Bahan Penelitian..... | 29 |
| 3.4 Prosedur Penelitian | 29 |
| 3.4.1 Persiapan Alat dan Bahan Penelitian | 29 |
| 3.4.2 Penentuan Kurva Tumbuh dan Kurva Baku Bakteri MRSA | 29 |
| 3.4.3 Ekstraksi..... | 30 |
| 3.4.4 Pembuatan Inokulum Bakteri | 31 |
| 3.4.5 <i>Disc Diffusion Assay (DDA)</i> | 31 |
| 3.4.6 <i>Minimum Inhibitory Concentration (MIC)</i> | 32 |
| 3.4.7 <i>Minimum Bactericidal Concentration (MBC)</i> | 32 |
| 3.4.8 Uji <i>Time Kill Assay</i> | 33 |
| 3.5 Analisis Data | 33 |
| 3.6 Alur Penelitian | 34 |
| BAB IV TEMUAN DAN PEMBAHASAN | 35 |
| 4.1 Fase Pertumbuhan Bakteri MRSA | 35 |
| 4.2 Ekstraksi buah Kemukus (<i>Piper cubeba L.</i>) | 38 |
| 4.3 <i>Disc Diffusion Assay (DDA)</i> | 40 |
| 4.4 <i>Minimum Inhibitory Concentration (MIC)</i> | 46 |
| 4.5 <i>Minimum Bactericidal Concentration (MBC)</i> | 50 |
| 4.6 <i>Time Kill Assay</i> | 53 |
| BAB V SIMPULAN, IMPLIKASI DAN REKOMENDASI | 59 |
| 5.1 Simpulan | 59 |
| 5.2 Implikasi..... | 59 |
| 5.3 Keterbatasan Penelitian..... | 59 |
| 5.4 Rekomendasi | 60 |
| DAFTAR PUSTAKA | 61 |
| LAMPIRAN..... | 69 |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP..... | 84 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.3.1 Kategori Daya Antibakteri | 14 |
| Tabel 2.3.2 Kategori Daya Bakteri terhadap Antibakteri | 14 |
| Tabel 4.1 Hasil Perhitungan Kurva Baku Jumlah Sel Bakteri MRSA..... | 37 |
| Tabel 4.3.1 Diameter Zona Hambat Uji DDA | 41 |
| Tabel 4.3.2 Hasil Uji Statistik | 44 |
| Tabel 4.4 Representasi Hasil Uji MIC | 48 |
| Tabel 4.5 Hasil Uji MIC dan MBC | 52 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.4.1 Tanaman Kemukus..... | 19 |
| Gambar 2.4.2 Struktur Lignan | 20 |
| Gambar 2.4.3 Struktur <i>Cubebin</i> | 21 |
| Gamber 2.5 <i>Staphylococcus aureus</i> | 23 |
| Gambar 3.6 Alur Penelitian | 33 |
| Gambar 4.1 Kurva Tumbuh Bakteri MRSA | 34 |
| Gambar 4.3 Hasil Uji DDA..... | 41 |
| Gambar 4.4 Hasil Uji MIC pada <i>microtiter 96-well plate</i> | 47 |
| Gambar 4.5 Hasil MBC pada MHA | 50 |
| Gambar 4.6.1 Hasil <i>Time Kill Assay</i> bakteri MRSA 172918..... | 53 |
| Gambar 4.6.2 Hasil <i>Time Kill Assay</i> bakteri MRSA 176104..... | 54 |
| Gambar 4.6.3 Hasil <i>Time Kill Assay</i> bakteri MRSA 178349..... | 55 |
| Gambar 4.6.4 Hasil <i>Time Kill Assay</i> bakteri MRSA ATCC 700699 | 56 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|-----------|
| Lampiran 1 Alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian..... | 69 |
| 1.1 Tabel Alat..... | 69 |
| 1.2 Tabel Bahan | 70 |
| Lampiran 2 Kurva Baku Strain Bakteri MRSA..... | 71 |
| 2.1 Kurva Baku MRSA 172918 | 71 |
| 2.2 Kurva Baku MRSA 176104 | 71 |
| 2.3 Kurva Baku MRSA 178349 | 72 |
| 2.4 Kurva Baku MRSA ATCC 700699 | 72 |
| Lampiran 3 Hasil Uji DDA dan Analisis Statistik | 73 |
| 3.1 Hasil Uji DDA | 73 |
| 3.2 Uji Normalitas | 73 |
| 3.3 Uji Mann-Whitney | 74 |
| Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian..... | 78 |
| 4.1 Hasil Subkultur Bakteri MRSA | 78 |
| 4.2 Hasil Rendemen Ekstraksi | 78 |
| 4.3 Hasil <i>Total Plate Count (TPC)</i> Kurva Baku | 79 |
| 4.4 Hasil Uji <i>Time Kill Assay</i> | 80 |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP | 84 |

DAFTAR PUSTAKA

- Altun, H.U. (2014). Antimicrobial Susceptibilities of Clinical *Acinetobacter baumannii* Isolates with Different Genotypes. *Jundishapur Journal of Microbiology*. Vol. 7 (12): 133-147.
- Ahmad, D. Q. Z. (2017). Ethnobotany and Therapeutic Potential of Kabab Chini (*Piper cubeba*). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, (August), 2418–2436.
- Ajizah, A. (2004). Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L. *Bioscientie*. Vol.1 (1): 31-8.
- Aryulina, D. (2006). *Biologi 3*. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Ayurvedic Plants. (2017). *Kankola (Piper cubeba) Medical Uses and Pharmacology*. [Online]: <https://herbs.indianmedicinalplants.info/index.php/medicinal-plants-uses-and-pharmacology>. (27 Juli 2019).
- Barger-Bachi, B. & Rohrer, S. (2002). Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. *Archives of Microbiology*. Vol.178:165–71.
- Cappuchino, J. G. & Sherman, N. (2011). *Microbiology a Laboratory Manual Ninth Edition*. Pearson Education: San Fransisco.
- Clinical Laboratory Standards Institute. (2016). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*; Approved standard— 9th ed. CLSI document M2-A9. 26:1. Clinical Laboratory Standards.
- Cronquist, A. (1988). *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. New York Botanical Garden: Bronx.
- De Rezende, A. A., e Silva, M. L. A., Tavares, D. C., Cunha, W. R., Rezende, K. C., Bastos, J. K., Lehmann, M., de Andrade, H. H., Guterres, Z. R., Silva, L. P., & Spanó, M. A. (2011). The effect of the dibenzylbutyrolactolic lignan (-)-cubebin on doxorubicin mutagenicity and recombinogenicity in wing somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*. Vol 49(6): 1235-1241.
- DeLeo, F.R., Otto, M., Kreiswirth, B.N., & Chambers, H.F. (2010). Community-Associated Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*. Vol.375(9725): 1557-1568.
- Deshpande, J. D. & Joshi, M. (2011). Antimicrobial Resistance : The Global Public Health Challenge. *International Journal of Student Research*. Vol.1(2): 41–44.

- Dewi, F.K. (2010). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar.* (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Dewitasari, F. W., Rumiyanti, L., & Rakhmawati, I. (2017). Rendemen dan skrining fitokimia pada ekstrak daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol 17(3): 197-202.
- Djide, Natsir, & Sartini. (2018). *Dasar-dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin.
- Doelle, H. W., Rokem, J. S., & Berovic, M. (Eds.). (2009). *BIOTECHNOLOGY- Volume VIII: Fundamentals in Biotechnology* (Vol. 8). EOLSS Publications.
- Elfahmi. (2006). *Phytochemical and biosynthetic studies of lignans with a focus on Indonesian medicinal plants.* (Tesis). Nedherlands: Facilitas Beddrif of Gronigen.
- Engriyani, R. (2011). *Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum (Wight) Walp.) terhadap Pertumbuhan Fungi Candida albicans Secara In Vitro.* (Skripsi). Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Evival, R. (2013). *Tanaman Rempah dan Fitofarmaka*. Lampung: Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi pengolahan pangan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Febjislami, S. (2017). Pusat Studi Agrikultur Sayuran Kita. *Identifikasi Sumber dan Kegunaan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Cola (Cola acuminata)*. (online) <https://sayurankita.com/2017/09/13/>.
- Frieden, T. (2013). *The Threat of Antibiotic Resistance*, dalam: *Antibiotic Resistance Threats in The United States*. United States: US Departement of Health and Human Services.
- Gamse T. (2014). *Liquid-Liquid Extraction and Solid-Liquid Extraction*. Graz University of Technology.
- Godoy de Lima, R., Barros, M. T., & da Silva Laurentiz, R. (2018). Medicinal Attributes of Lignans Extracted from *Piper Cubeba*: Current Developments. *ChemistryOpen*. Vol.7(2), 180–191. <https://doi.org/10.1002/open.201700182>
- Gnanamani A., Hariharan P., & Satyaseela M. (2017). *Staphylococcus aureus: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach*. *Frontiers in Staphylococcus aureus In Tech*. Vol.1(1): 1-28.

- Hall, B. G., Acar, H., Nandipati, A., & Barlow, M. (2013). Growth Rate Made Easy. *Molecular Biology and Evolution*. Vol.31: 232-238.
- Hermawan, A. (2007). Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Disk. *Artikel Ilmiah, Fakultas Kedokteran Hewan*. Surabaya: Universitas Airlangga Surabaya.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia Volume II*, Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta: Koperasi Karyawan, Badan Litbang Kehutanan.
- Holmes, Natasha E. & Howden, Benjamin P. (2014). What's New in The Treatment of Serious MRSA Infection. *Current Opinion Infection Diseases*. Vol.(6):4781-8.
- Horner, C., Mawer, D., & Wilcox, M. (2012). Reduced susceptibility to chlorohexidine in Staphylococci: is it increasing and does it matter?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vol. 67(11): 2547-2559.
- Hudzicki, J. (2013). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. [Online]. Diakses dari: <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3189kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol>.
- Jawetz, Melnick, & Adelberg. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, Melnick, & Adelberg. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz., dkk. (2007). *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23 Ed.* Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta: EGC.
- Jorgensen, J. H., & J. D. Turnidge. (2007). Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods, p. 1152–1172. In P.R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, and M. A. Pfaller (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Karen, Rezende., Rodrigo, Lucarini., dkk. (2017). Antibacterial Activity of Cubebin Isolated from *Piper cubeba* and It's Semisynthetic Derivatives against Microorganisms that Cause Endodontic Infections. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Vol.26 (296-303).
- Katzer, G. (2005). Spice Page of Pandan Leaves (*Pandanus Amaryllifolius Roxb*). Phillipines. *Philippine Journal of Science*. Vol.134 (1): 39-44.
- Khairunnisa, T. R. (2014). *Pemurnian dan Karakterisasi Enzim CGT- ase (Siklodekstrin Glukanotransferase) dari Bakteri Isolat LTi-A.24*. (Skripsi).

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Lampung.

- Komatsuzawa, H., Ohta, K., Fujiwara, T., Choi, G.H., Labischinski, H., & Sugai, M. (2001). Cloning and sequencing of the gene, fmtC, which affects oxacillin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Letters*. Vol.203: 49–54.
- Ketaren, S. (2014). *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Kumar, Cotran, & Robbins. (2012). *Buku Ajar Patologi*. Jakarta: EGC. hlm. 796.
- Leonardus. (2008). *Uji Antimikrobia Ekstrak Ulva lactuca terhadap Escherichia coli, Bacillus subtilis dan MRSA albicans*. (Skripsi). Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya. Yogyakarta.
- Lestari, W., Ahmady, A., & Zubir, N. (2011). *Studi Penggunaan Antibiotik Berdasarkan Sistem ATC/DDD dan Kriteria Gysens di Bangsal Penyakit Dalam RSUP DR. M. Jamil Padang*. (Tesis). Fakultas Farmasi, Pascasarjana, Universitas Andalas. Padang.
- Lim, T.K. (2012). *Edible Medical and Non-Medical Plant*. London New York: Springer Dordrecht Heidelberg. Hal: 879-880.
- Madigan. M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A, & Clark, D. P. (2010). *Brock Biology of Microorganism*. 13th edition. San Francisco: Benjamin Cummings.
- Madigan, M. T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., & Clark, D. P. (2012). *Biology of Microorganism*. 13th ed. San Francisco: Pearson. P. 140-141.
- Maistro, E. L., Natel, A. V. M., de Souza, G. H. B., & Ferreira, F. F. (2011). Genotoxic effects of (-)-cubebin in somatic cells of mice. *Journal of Applied Toxicology*. Vol.31(2), 185-189.
- Mandal, V. & Yogesh M. H. (2007). *Microwave assisted Extraction – An Innovative and Promising*.
- Marselia, S., Wibowo, A, M., & Arreneuz, S. (2015). Aktivitas antibakteri ekstrak daun soma (*Ploiarium alternifolium* Melch) terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. Vol. 4(4): 72-82.
- Matsuo, K. M & Komatsuzawa, H. (2012). Factors affecting susceptibility of *Staphylococcus aureus* to antibacterial agents. *Journal of Oral Bioscience*. Vol. 54: 86-91.
- Mazlan, N.A.R., Rukayadi, Y., Maulidiani, M., & Ismail, I. S. (2018). Solvent Extraction and Identification og Active Antiariogenuc Metabolites ini *Piper Cubeba* L. Though 1H-NMR-Based Metabolomic Approach. *Molecules*. 23 (1730).

- McCallum, N., Berger-Bachi, & B., Senn, M. M. Regulation of antibiotic resistance in. (2010). *International Journal of Mededical Microbiology*. Vol.300:118–29.
- Microchemlab.com. (2016). *Minimum Bactericidal concentration*. [Internet]. [diunduh 2019 Oktober 22]. Tersedia pada: <http://microchemlab.com/test/minimum-bactericidal-concentration-mbc-test>.
- Mulik, M. B. & Laddha, K.S. (2015). Isolation, characterization, and quantification of bioactive dibenzylbutyrolactone lignan (-)-cubebin from fruits of *Piper cubeba* L. *Indian Journal of Natural Product and Resources*. Vol.6(3):189-193.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. (2013). *Biokimia harper* (27 ed.). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Nurhayati & Haris, A. (2010). *Psikologi Pendidikan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nursid, M., Manulang, M., Samiadji, J., & Maraskuranto, E. (2015). Effect of Agitation Speed and Cultivation Time on The Production of The Emestrin Produced by *Emericella nidulans* Marine Fungal. *Squalen Buletin of Marine & Fisheries Postharvest and Biotechnology*. Vol.10(2):73–78.
- OIE-World Organisation of Animal Health. (2012). *Laboratory methodologies for bacterial antimicrobial susceptibility testing*. [Online]. Diakses dari: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Our_scientific_expertise/docs/pdf/GUIDE_2.1_ANTIMICROBIAL.pdf.
- Pelczar, Michael, J., & Chan, E. C. S. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Pelczar, Michael, J., & Chan, E. C. S. (2012). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid II*. Jakarta: UI Press.
- Photitirat, W. & Wandee, G. (2017). Variation of Bioactive component in *Curcuma longa* in Thailand. *Current Science*. Vol.91:1397-1400.
- Pradina, A. W., Widijijono, & Harsini. (2008). Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Kemukus (*Piper cubeba*) dalam Obat Kumur terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. Vol.10:1.
- Qazi, Z. A., Aziz, R. U., & Tajuddin. (2017). Ethnobotany and Theurapeutic Potential of Kabab Chini (*Piper cubeba*). *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol.6(8) 2418-2436.
- Quinn, G. & Keough, W. (2002). *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. United States of America: Cambridge University Press.

- Rahman, M. A., Yan, L. K., & Rukayadi, Y. (2016). Antibacterial activity of fingerroot (*Boesenbergia rotunda*) extract against acne-inducing bacteria. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Vol.7(6), 2157–2163.
- Rahmawati. (2017). Potensi Anti Fungi Isolat Bakteri Endofit Akar Vetiveria zizanioides dan Ageratum conyzoides terhadap Candida albicans. (Skripsi). Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Rashmi, S. & Urooj. (2010). Effect of processing on nutritionally important starch fraction in rice varieties. *International Journal of Food Science and Nutrition*. Vol.54:27–36.
- Rollins, D.M. & Joseph, S.W. (2012). *Basic Mechanisms of Antibiotic Action and Resistance*. [Online]. Diakses dari: <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/Chemotherapy/AntibioticMechanisms.htm>.
- Rolston, K.V.I., Wang, W., Nesher, L., Coyle, E., Shelburne, S., & Prince, R. A. (2014). In vitro activity of telavancin compared with vancomycin and linezolid against Gram-positive organisms isolated from cancer patients. *The Journal of Antibiotic*. Vol.67(7):505-9.
- Rukayadi, Y., Yong, D., & Hwang, J. K. (2006). In Vitro AntiMRSA Activity of Xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Journal General of Microbiol*. Vol.57: 1231-1234.
- Rukayadi, Y., Lee, K., Han, S., Yong, D. & Hwang, J. K. (2009). In vitro activities of panduratin A against clinical *Staphylococcus* strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol.53(10): 4529-4532.
- Rukayadi, dkk. (2016). Antimicrobial Activity of Fingerroot [*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. A.] Extract against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. Malaysia: *Laboratory of Natural Products, Institute of Bioscience*. Universiti Putra Malaysia.
- Rukayadi, dkk. (2019). Antibacterial and Antispore Activities of Isolated Compounds from *Piper cubeba* L. *Molecules*. 24 (3095).
- Schmidt, T. J., Hemmati, S., Klaes, M., dkk. (2010). Lignans in flowering aerial parts of *Linum* species – chemodiversity in light of systematics and phylogeny. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. Vol.71: 1714-1728
- Sennang N., Kurniawan, L.B., & Esa, T. (2011). Pola Balteri Aerob dan Kepekaan Antimikroba pada Ulkus Kaki Diabetik. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. Vol.18 (1): 1–3.
- Seth, C. Y. & Joanna, W. L. (2015). Gut Microbial Metabolism of Plant Lignans.

- Plant Biotechnology and Agriculture.* 443-461.
- Setyosari, P. (2010). *Metode Penelitian Penelitian dan Pengembangan*. Jakarta: Kencana.
- Silva, M. L. A., Albuqueque, S., Souza, B. H. B., Bastos, J. K., & Silva, R. (2009). Process to obtain dibenzylbutyrolactonic lignans, process to obtain synthetic derivatives from lignans bearing anti-chagas chemoprophylactic and therapeutic activities. *US.* 7:521-569.
- Solikhah, E. N. (2016). Indonesian Medicinal Plants as Sources Secondary Metabolites for Pharmaceutical Industry. *Journal of Medical Sciences*. Vol. 48(4): 226-239. <https://doi.org/10.19106/JMedSci00480420> 1606.
- Spellberg, B., Blaser, M., Guidos, R. J., Boucher, H. W., Bradley, J. S., Eisenstein, B. I., ... Gilbert, D. N. (2011). Combating antimicrobial resistance: policy recommendations to save lives. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 52 Suppl 5, S397–S428. <https://doi.org/10.1093/cid/cir153>.
- Sudarsono. (1996). *Tumbuhan Obat, Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan, PPOT*. UGM, Yogyakarta: 127-128.
- Sulistyo. (2017). *Farmakologi dan Terapi*. Yogyakarta: EKG.
- Suprihatin. (2010). *Teknologi Fermentasi*. Surabaya: UNESA University Press.
- Supriyatoro. (2011). *Kebijakan dan Program Pemerintah Dalam Mengurangi Resistensi Antibiotik. Dipresentasikan pada 7th National Symposium of Indonesia Antimicrobial Resistance Watch di Jakarta*. Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran. hal. 474–476.
- Syamsuni, H. (2005). *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: Penerbit EGC.
- Tandon , N. & Sharma, P. (2012). Monograph of *Piper cubeba* Linn. f., In: Quality standards of Indian medicinal plants. Medicinal Plant Unit, Indian Council of Medical Research, New Delhi, 2012, Monograph of *Piper cubeba* Linn. f., In: *Quality standards of Indian medicinal plants*. Vol.11: 282-292.
- Thammawat, S., Sangdee, K., & Sangdee, A. (2017). Time kill profiles and cell surfaces morphological effects of crude *Polycephalomyces nipponicus* Cod-NK1201 mycelial extract against antibiotic-sensitive and resistant *Staphylococcus aureus*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 16(2): 407-412.
- Usia, T., Watabe, T., Kadota, S., & Tezuka, Y. (2005). Metabolite cytochrome p450 complex formation by methylene dioxyphenyllignans of *Piper cubeba* L.: mechanism-based inhibition. *Life Sciences*. Vol. 76(20): 2381-2391.

- Uri Sela, Chad W. E., Joel Correa da Rosa, & Vincent, A. F. (2018). Strains of bacterial species induce a greatly varied acute adaptive immune response: The contribution of the accessory genome. *PLOS Pathogens*. Vol.14(1): e1006726 DOI: 10.1371/journal.ppat.1006726
- Utami. (2011). Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi. *El-Hayah*. Vol.1(4): 191198. <http://dx.doi.org/10.18860/elha.v1i4.1783>.
- Utomo, B. S., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Uji aktivitas antibakteri senyawa C-4metoksifenilkaliks[4]resorsinarena termodifikasi hexadecyltrimethylammonium-bromide terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia (JKPK)*. Vol.3: 201-209.
- Valgas, C., de Souza, S. M., Smânia, E. F. A., & Smânia Jr., A. (2007). Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products. *Brazilian Journal of Microbiology*. Vol.38:369-380.
- Vardakas, D. A. & Vlietinck, A. J. (2013). Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. In: Dey, P.M., Harbone, J.D. (eds), *Methods in Plant Biochemistry*. London: Academic Press. 47-69.
- Vasanthakumari, R. (2007). *Textbook of Microbiology*. New Delhi: BI Publications.
- Volk, W.A. & M.F. Wheeler. (1993). *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jilid 1. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Wang, L. & Barrett, J.F. (2013). *Methods in Molecular Biology: Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Protocols*. Totowa-New Jersey; Humana Press Inc.:209-20.
- Woollgast, Pallaroni, Agazzi, & Anklam. (2001). Analysis of Procyanidins in Chocolate by Reserved-Phase High Performance Liquid Chromatography With Electrospray Ionization Mass Spectrometric and Tandem Mass.Spectrophotometric Detection. *Journal of Chromatography A*. Vol.926: 211- 220.
- Yulianti, O.N. (2009). *Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang, dan Daun Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.)*. (Skripsi). Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yuwono. (2012). *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Palembang: Departemen Mikrobiologi FK Unsri.
- Zainin, N. S., Lau, K. Y., Zakaria, M., Son, R., Abdul, R. A. F., & Rukayadi, Y. (2013). Antibacterial Activity of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. A. extract against *Escherichia coli*. *International Food and Research Journal*. Vol. 20(6): 3319-3323.

Zaveri, M., Khandhar, A., Patel, S. & Patel, A. (2010). Chemistry and pharmacology of *Piper longum* L. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 5: 67-76.

