

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL JERUK PURUT TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI MUKOSA TELINGA TENGAH YANG TERINFEKSI *Staphylococcus aureus* PADA GALUR WISTAR**Mhd Syahrhan Fadlan D, Lola Triana Sari, Fiska Maya Wardhani, Yuliani Mardiatilubis¹***Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Prima Indonesia, Indonesia*¹E-mail: yulianimardiatilubis@unprimdn.ac.id**ABSTRACT**

Kaffir lime is a plant from the citrus tribe which is generally used as a flavor enhancer in food and beverages, besides that this plant is also a plant that has various health benefits because it contains flavonoids, alkaloids, saponins, steroids and tannins which are good for body health, oil. essential components of kaffir lime peel contain the main components (21.44%) β -pinem, (20.91%) citronellal, (12.59%) limonene and (11.93%) terpinen - 4 ol, β - pinem compounds have proven to have an antibacterial effect by inhibiting the synthesis of DNA, RNA polysaccharide walls and cell membrane ergosterol. This study aims to determine the ethanol activity of kaffir lime peel against the histopathological picture of the middle ear mucosa infected with staphylococcus aureus in the Wistar line. This research is an experimental study using the post test only control group design. The sampling technique in this study using simple random sampling technique. The test used in this study was the paired T test. The results of this study indicate that for each treatment group from the control treatment, kaffir lime peel extract with a concentration of 50%, and Ofloxacin, on average had effectiveness against the growth of staphylococcus aureus bacteria in the middle ear mucosa histopathologically, with a significance value of 0.009 for the control group, 0.002 for the extract. kaffir lime peel and 0.000 for Ofloxacin extract. From these results we can see that the most effective of the results of this study is Ofloxacin extract because it has the lowest significance value among other treatments.

The conclusion of this study is that the average treatment of each group has an effectiveness against the growth of staphylococcus aureus bacteria in the middle ear mucosa histopathologically, but the most effective is Ofloxacin extract.

Keywords: Ethanol, kaffir lime, ear mucosa**ABSTRAK**

Jeruk purut adalah tanaman dari suku jeruk yang umumnya digunakan sebagai penambah cita rasa pada makanan dan minuman, selain itu tanaman ini juga merupakan tanaman yang memiliki berbagai khasiat untuk kesehatan karena mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan tanin yang baik untuk kesehatan tubuh, minyak atsiri kulit buah jeruk purut mengandung komponen utama (21,44%) β -pinem, (20,91%) sitronelal, (12,59%) limonen dan (11,93%) terpinen – 4 ol, senyawa β – pinem telah terbukti mempunyai efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA, RNA dinding polisakarida dan ergosterol membran sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas etanol kulit jeruk purut terhadap gambaran histopatologi mukosa telinga tengah yang terinfeksi *staphylococcus aureus* pada galur wistar. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *the post test only control group design*. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik simple random sampling. Uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji T berpasangan. Hasil penelitian ini menunjukkan untuk setiap kelompok perlakuan dari perlakuan kontrol, ekstrak kulit jeruk purut konsentrasi 50%, dan Ofloxacin, rata memiliki efektivitas terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* di mukosa telinga tengah secara histopatologi, dengan nilai signifikansi sebesar 0,009 untuk kelompok kontrol, 0,002 untuk ekstrak 50% dan 0,000 untuk ekstrak Ofloxacin. Dari hasil ini dapat kita lihat bahwa yang paling efektif dari hasil penelitian ini adalah ekstrak Ofloxacin karena memiliki nilai signifikansi paling rendah diantara perlakuan yang lainnya. Kesimpulan dari penelitian ini adalah rata – rata perlakuan dari setiap kelompok memiliki efektivitas terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* di mukosa telinga tengah secara histopatologi, namun yang paling efektif yaitu ekstrak Ofloxacin.

Kata Kunci : Etanol, jeruk purut, Mukosa telinga**PENDAHULUAN**

Infeksi adalah salah satu penyakit yang disebabkan oleh masuk dan berkembangbiaknya bakteri kedalam tubuh sehingga menyebabkan kerusakan organ. Mikroorganisme penyebab penyakit infeksi disebut juga patogen (Brooks et al., 2013). Infeksi merupakan suatu permasalahan dalam penatalaksanaannya karena menjadi salah satu penyakit yang menyebabkan angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*) yang cukup tinggi (Dermadi, 2008). Menurut survey dari WHO dijumpai bahwa dalam kasus resistensi antimikroba di dunia khususnya infeksi, asia tenggara memiliki angka yang tertinggi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap Methicillin, sehingga antimikroba tersebut tidak cukup kuat dalam fungsinya sebagai antimikroba. Selain itu ditemukan 30% sampai 80% penggunaan antimikroba di Indonesia

tidak berdasarkan indikasi, hal ini tidak hanya merupakan masalah bagi lingkungan dan juga bagi masyarakat luas. (Moeloe NF, 2015)

Otitis media akut adalah peradangan yang terjadi di seluruh mukosa telinga tengah, tuba eustasius, antrum mastoid, dan sel sel mastoid. Otitis media terbagi menjadi dua yaitu otitis media supuratif dan non supuratif (Soepardi, 2007) Otitis media akut mempunyai gejala yang berlangsung cukup cepat seperti adanya tanda-tanda efusi telinga tengah dan adanya tanda inflamasi pada telinga tengah. Otitis media akut juga mempunyai tanda paling klasik apabila sudah terjadi penanahan seperti adanya otalgia dan demam, dan dari pemeriksaan otoskop jumpai hilangnya reflek cahaya, hilangnya bentuk normal membrane timpani, dan adanya pembengkakan pada membrane timpani (Toll and nunez, 2012) Pada tahun 2006 dari data yang didapatkan di poliklinik THT RSUP H. Adam Malik Medan tahun 2006 sebanyak 26% dari keseluruhan pasien yang mengalami otitis media supuratif kronis, sedangkan pada tahun 2007 dan 2008 mencapai 28 dan 29%. Pada tahun 2009 ditemui sebanyak 130 kasus otitis media supuratif kronis dan 65 kasus dengan kasus kolestetoma, dan sebanyak 35 kasus dengan komplikasi di RSUP H. Adam Malik Medan (Rambe, 2009) Mamonto dan kawan kawan tahun 2015 pada penelitiannya pada periode desember 2012 sampai januari 2013 pada RSUP PROF. Dr. Kandao manado didapatkan 20 sampel yang berhasil diidentifikasi adalah *streptococcus sp* sebanyak 7 (35%) diikuti *staphylococcus sp* 4 (25%) dan *enterobacter sp* 3 (15%), *proteus vulgaris* 2 (10%), *bacillus subtilis* 2 (10%), *seretea rubidaea* 1 (5%), *candida* 1 (5%)

Beberapa bakteri secara alami memiliki kemampuan untuk resisten terhadap obat, seperti pada antibiotik meskipun tidak berinteraksi secara langsung hal ini disebabkan karena bakteri terdapat enzim yang dapat merusak obat. Penggunaan antibiotik yang cukup dominan di Indonesia dominan adalah turunan tetrasiklin, penisilin, kloramfenikol, eritromisin dan streptomisin. Di Negara lain pola penggunaan antibiotik sering digunakan berlebihan dan diberikan secara tidak tepat. Penggunaan antibiotik di suatu wilayah mempengaruhi perkembangan resistensi kuman terhadap antibiotika, tidak terkendalinya penggunaan antibiotika cenderung akan meningkatkan resistensi kuman yang semula sensitif (Refdanita dkk, 2001) *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen utama pada manusia yang menyebabkan berbagai manifestasi klinis. *S. aureus* ditemukan di lingkungan dan juga ditemukan pada flora normal manusia, terletak di kulit dan selaput lendir (paling sering di daerah hidung) kebanyakan orang sehat. *S. aureus* biasanya tidak menyebabkan infeksi pada kulit yang sehat; Namun, jika dibiarkan masuk ke aliran darah atau jaringan internal, bakteri ini dapat menyebabkan berbagai infeksi yang berpotensi serius. Transmisi biasanya dari kontak langsung. Namun, beberapa infeksi melibatkan metode penularan lain. (Tracey et al., 2017)

Di Amerika Serikat angka kematian yang disebabkan infeksi *S. aureus* yang serius sekitar 20.000 kematian dalam setahun, dan 5.000 kematian di Uni Eropa, dengan menghabiskan biaya sekitar € 380 juta untuk biaya erUE. Faktor penyebab tingginya angka kematian infeksi *S. aureus* adalah peningkatan resistensi antimikroba. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) memiliki angka kematian yang cukup tinggi yaitu : 30% sampai 40%. Resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik tersebar luas pada infeksi yang didapat dari infeksi nosokomial. Beberapa strain *S. aureus* bahkan telah mengembangkan resistansi terhadap vankomisin yang merupakan antibiotik pilihan terakhir. dan kandidat vaksin sejauh ini tidak berhasil Infeksi resiko yang disebabkan oleh resistensi *S. aureus* merupakan risiko yang nyata sehingga dibutuhkan pengobatan profilaksis dan pengobatan alternatif. (Grace R. Pidwill., 2021) Secara turun temurun pengobatan tumbuhan sebagai obat tradisional sudah dilakukan sejak dahulu oleh masyarakat Indonesia. Negara Indonesia merupakan negeri yang kaya akan keanekaragaman hayati yang dimiliki oleh hewan dan tumbuhannya. Berbagai tumbuhan memiliki begitu banyak spesies yang beraneka-ragam. Tanaman dimanfaatkan untuk sebagai bahan makanan, maupun sebagai bahan untuk obat-obatan. Pemanfaatan tanaman sebagai obat-obatan semakin populer di Indonesia. Dengan meningkatnya angka resistensi terhadap antibiotik memacu untuk mencari obat yang memiliki efektivitas sebagai antimikroba yang bersumber dari bahan-bahan alami seperti tumbuhan. Jeruk purut adalah tanaman yang banyak dijumpai sehingga mudah dijangkau oleh masyarakat. Tanaman ini berasal dari genus Citrus merupakan tanaman penghasil minyak atsiri. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan perdu yang biasanya dimanfaatkan buah dan daunnya sebagai bumbu penyedap masakan. Dalam perdagangan internasional dikenal sebagai kaffir lime (Miftahendrawati, 2014).

Penelitian yang dilakukan Warsito (2017) mendapatkan bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk purut mengandung komponen utama (21,44%) β -pinen, (20,91%) sitronelal, (12,59%) limonen dan (11,93%) terpinen-4-ol, sedangkan pada minyak atsiri ranting jeruk purut komponen utamanya adalah (81,52%) sitronelal, (6,10%) linalool, dan (3,62%) sitronelil asetat. Pada minyak atsiri daun jeruk purut memiliki komponen utama (85,07%) sitronelal, (3,46%) linalol dan (2,79%) sabinen. Senyawa β pinene telah terbukti mempunyai efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA, RNA dinding polisakarida dan ergosterol membran sel (Chanthaphon et al., 2006). Miftahendrawati (2014), menjelaskan bahwa minyak atsiri jeruk purut mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 25%.

Atas dasar pemikiran tersebut peneliti akan melakukan penelitian tentang uji efektivitas ekstrak ethanol kulit jeruk purut (*Citrus hytrix*) terhadap gambaran histopatologi mukosa telinga tengah yang terinfeksi *staphylococcus aureus* pada tikus (*rattus norvegicus galus wistar*)

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *the post test only control group design*. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik simple random sampling. Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan mulai dari bulan Oktober 2020 sampai desember 2020. Pembuatan ekstrak kulit jeruk purut dan perlakuan hewan uji dilakukan di Laboratorium farmakologi dan toksologi fakultas farmasi Universitas Sumatera Utara Medan sedangkan pembuatan histopatologi membrane telinga tengah dilakukan di departemen Histopatologi di fakultas kedokteran Universitas Prima Indonesia. Pada

penelitian ini menggunakan hewan uji 20 ekor tikus putih (Ratus *noverikus galur wistar*) dengan rata-rata berat badan 200mg dengan usia 6-8 minggu. Untuk menghitung jumlah sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federer untuk uji eksperimental, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$ sedangkan uji *invivo* menggunakan 5 kelompok dengan jumlah masing-masing perkelompok 4 ekor tikus. Semua data yang dapat diperoleh dari keseluruhan kelompok control dan kelompok perlakuan terhadap gambaran histopatologi mukosa telinga tengah yang dilakukan uji normalitas dan menggunakan *Kolmogorov Smirnov*. Apabila data berdistribusi normal ($P > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji analisis varian Uji T Berpasangan. *Etical Clearance Number* 1271012S Terdaftar/Terakreditasi.

HASIL

Penelitian ini untuk mencari tahu uji aktivitas ekstrak etanol kulit jeruk purut terhadap gambaran histopatologi mukosa telinga tengah yang terinfeksi *staphylococcus aureus* pada galur wistar, untuk hasil penelitiannya dapat kita lihat pada tabel 1:

Tabel 1. Hasil Pengukuran Setiap Perlakuan Kelompok

	Kelompok I (Normal)	Kelompok II (Kontrol Positif)	Kelompok III (Ekstrak 50%)	Kelompok IV (Ofloxacin tab)
	2	275	163	54
	1	260	148	47
	0	213	136	20
	0	117	98	18
Total	0,75	865	547	139
Rata - Rata		216,25	136,7	34,7

Uji normalitas bertujuan untuk menguji apakah dalam model regresi, variabel pengganggu atau residual berdistribusi normal. Uji normalitas dalam penelitian dilakukan dengan menggunakan pendekatan *Kolmogrov-Smirnov*. Uji normalitas menggunakan tingkat signifikansi 5%. Dasar pengambilan keputusan pendekatan *Kolmogrov-Smirnov* berdasarkan:

1. Jika hasil *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* diatas tingkat signifikansi 0,05 menunjukkan pola distribusi normal, maka model regresi tersebut memenuhi asumsi normalitas.
2. Jika hasil *One Sample Kolmogorov-Smirnov* dibawah tingkat signifikansi 0.05 tidak menunjukkan pola distribusi tidak normal, maka model regresi tersebut tidak memenuhi asumsi normalitas.

Tabel 2. Uji Normalitas Untuk Setiap Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	<i>P value</i>
Kelompok II Kontrol Positif	0,998
Kelompok III Ekstrak kulit Jeruk Purut 50%	0,988
Kelompok IV Ofloxacin Tab	0,986

Dari tabel 2 dapat kita lihat hasil uji normalitas untuk data setiap kelompok perlakuan, rata – rata nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 atau $p > 0,05$ yang berarti bahwa data pada setiap kelompok perlakuan pada penelitian ini semuanya berdistribusi normal.

Uji analisis varian Uji T Berpasangan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan antara seluruh variabel atau perlakuan sebelum dan sesudah adanya perlakuan yang diberikan kepada sampel yaitu tikus wistar. Teori uji rata-rata T-test adalah sebuah teori dalam statistik yang digunakan untuk menguji apakah suatu nilai tertentu (yang diberikan sebagai pembanding) berbeda secara nyata ataukah tidak dengan rata-rata sebuah sampel. Untuk melakukan uji beda rata-rata dengan T-test, data yang digunakan adalah data yang bertipe kuantitatif. Paired sample T-test digunakan apabila data yang di kumpulkan dari dua sampel yang saling berhubungan, artinya bahwa satu sampel akan mempunyai dua data. Uji-t berpasangan (paired T-test) adalah salah satu metode pengujian hipotesis dimana data yang digunakan tidak bebas (berpasangan). Ciri-ciri yang paling sering ditemui pada kasus yang berpasangan adalah individu (obyek penelitian) dikenai dua buah perlakuan yang berbeda (Hutabarat, 2009). Dengan ketentuan Nilai signifikansi dalam uji beda adalah = 0,05 , apabila signifikansi > 0,05 maka tidak ada pengaruh antara kedua variabel sedangkan jika signifikansi < 0,05 maka ada pengaruh di antara setiap variabel atau perlakuan.

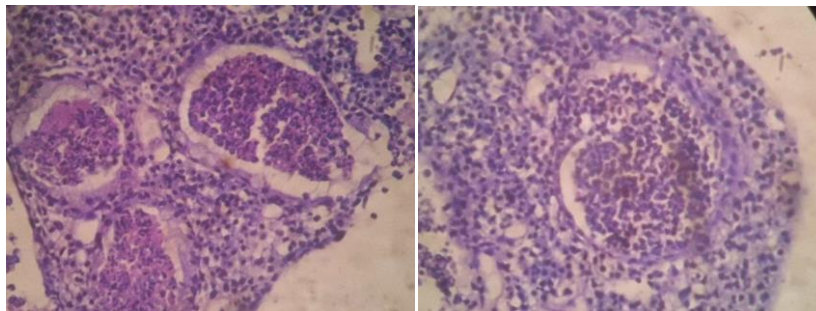
Nilai signifikansi kelompok III dengan pemberian ekstrak kulit jeruk purut 50% dapat kita lihat nilainya sebesar 0,002 lebih kecil < 0,05 yang menyatakan bahwa ada aktivitas yang ditimbulkan dari ekstrak jeruk purut 50% terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* di mukosa telinga tengah secara histopatologi.

Nilai signifikansi kelompok IV dengan pemberian Ofloxacin Tab dapat kita lihat nilainya sebesar 0,000 lebih kecil < 0,05 yang menyatakan bahwa ada aktivitas yang ditimbulkan dari pemberian Ofloxacin Tab terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* di mukosa telinga tengah secara histopatologi.

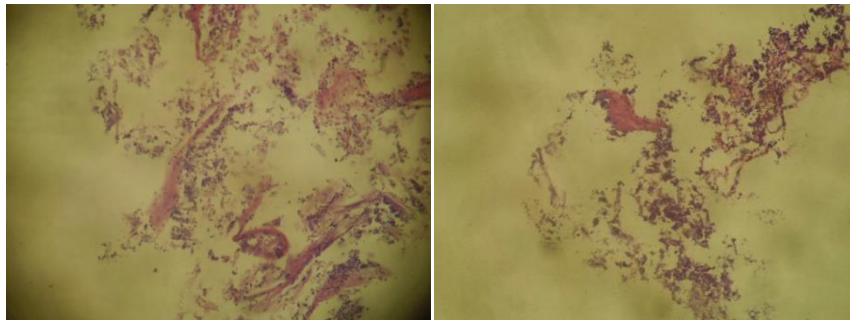
Tabel 3. Hasil Uji T Berpasangan untuk Setiap Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	P value
Kelompok II Kontrol Positif	0,009
Kelompok III Ekstrak kulit Jeruk Purut 50%	0,002
Kelompok IV Ofloxacin Tab	0,000

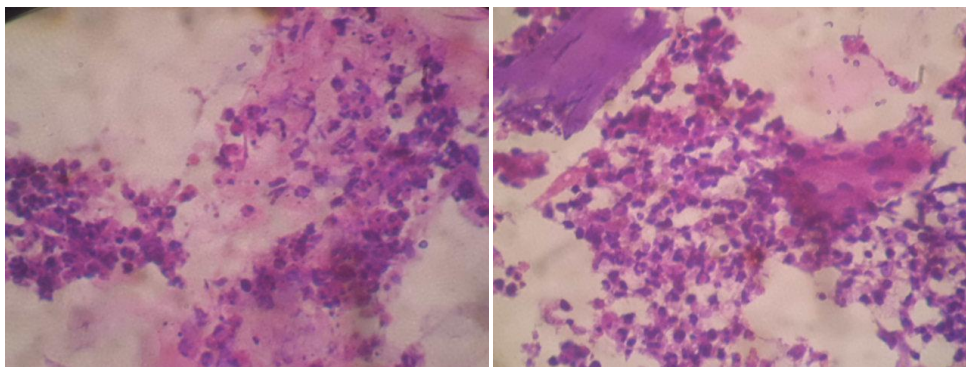
Tabel 3 menunjukkan nilai signifikansi yang sudah didapatkan setelah dilakukan uji T berpasangan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh dari setiap perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini. Nilai signifikansi kelompok II dengan kontrol Positif dapat kita lihat bahwa nilainya sebesar 0,009 lebih kecil < 0,05 yang menyatakan bahwa pada perlakuan kontrol positif ada aktivitas yang ditimbulkan pada perlakuan ini terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* di mukosa telinga tengah secara histopatologi.



Gambar 1. Gambaran Histopatologi oma 2 Kontrol Positif



Gambar 2. Gambaran Histopatologi oma 3 Ekstrak 50%



Gambar 3. Gambaran Histopatologi oma 4 Ekstrak Ofloxacin

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan untuk membandingkan efektifitas antara ekstrak kulit jeruk purut dengan konsentrasi 50% dan Ofloxacin terhadap gambaran histopatologi mukosa telinga tengah yang terinfeksi *staphylococcus aureus* pada galur wistar, dapat kita lihat dari hasil nilai signifikan dari setiap kelompok perlakuan, kita lihat bahwa dalam penelitian ini ekstrak yang paling efektif adalah Ofloxacin dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 dimana di dalam penelitian untuk melihat hasil yang baik adalah jika nilai hasil signifikansinya rendah dapat dikatakan bahwa hasil penelitian itu memiliki pengaruh atau efektif yang baik dalam suatu penelitian.

DISKUSI

Dari gambar diatas dapat kita lihat bahwa sel PMN dari hasil uji coba atau kelompok kontrol, ekstrak jeruk purut 50% dan ekstrak Ofloxacin mengalami pengecilan yang menandakan bahwa untuk setiap kelompok memiliki aktivitas terhadap gambaran histopatologi mukosa telinga tengah yang terinfeksi *staphylococcus aureus* pada galur wistar, namun aktivitas yang paling efektif yaitu pada kelompok 4 dengan pemberian ekstrak Ofloxacin.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Ratna (2017) dengan judul aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut terhadap *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*. Dengan hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berturut-turut sebesar 1 dan 2%. Minyak atsiri juga mampu menghambat dan membunuh *Escherichia coli* dengan nilai KHM dan KBM £ 0,0625%. Hasil KLT menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut mengandung beberapa senyawa golongan terpen dengan Rf yang berbeda. Berdasarkan hasil bioautografi, salah satu senyawa golongan terpen tersebut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan ardian (2019) dengan hasil Ekstrak metanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Konsentrasi ekstrak metanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) 50 % dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan luas zona hambat paling besar.

KESIMPULAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas etanol jeruk purut terhadap gambaran histopatologi mukosa telinga tengah yang terinfeksi *staphylococcus aureus* pada galur wistar. Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat kita ambil kesimpulan: Untuk Kelompok kontrol Positif dapat kita lihat bahwa nilainya sebesar 0,009 lebih kecil < 0,05 yang menyatakan bahwa pada perlakuan kontrol positif ada aktivitas yang ditimbulkan pada perlakuan ini terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* di mukosa telinga tengah secara histopatologi. Untuk kelompok III dengan pemberian ekstrak kulit jeruk purut 50% dapat kita lihat nilainya sebesar 0,002 lebih kecil < 0,05 yang menyatakan bahwa ada aktivitas yang ditimbulkan dari ekstrak jeruk purut 50% terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* di mukosa telinga tengah secara histopatologi.

Untuk kelompok IV dengan pemberian Ofloxacin Tab dapat kita lihat nilainya sebesar 0,000 lebih kecil < 0,05 yang menyatakan bahwa ada aktivitas yang ditimbulkan dari pemberian Ofloxacin Tab terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* di mukosa telinga tengah secara histopatologi. Dalam penelitian ini ekstrak yang paling efektif adalah ekstrak Ofloxacin, karena memiliki nilai signifikansi paling rendah diantara perlakuan yang lainnya, dimana semakin rendah nilai signifikansi sebuah penelitian maka semakin baik penelitian itu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aljohani, Z., Alghonaim, A., Alhaddad, R., ALShaif, W., AlThomali, R., Asiry, A., Hefni, L., Nagadi, S., & Taha, R. (2018). Otitis media causes and management. *International Journal Of Community Medicine And Public Health*, 5(9), 3703. <https://doi.org/10.18203/2394-6040.ijcmph20183441>
2. Anuchapreeda, S., Anzawa, R., Viriyaadhammaa, N., Neimkhum, W., Chaiyana, W., Okonogi, S., & Usuki, T. (2020). Isolation and biological activity of agrostophillinol from kaffir lime (*Citrus hystrix*) leaves. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(14), 127256. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127256>
3. Baratawidjaja, K. G., & Rengganis, I. (2014). *Immunologi Dasar Edisi ke-11 (Cetakan ke-2)*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
4. Brooks, G. F., Carrol, K. ., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran Edisi ke-25*. EGC.
5. Darmadi (2008). *InfeksiNosokomial :Problematika Dan Pengendaliannya*. Jakarta :PenerbitSalembaMedika
6. Djaafar, Z. A., Helmi, & Restuti, R. D. (2015). Kelainan Telinga Tengah. In *Buku Ajar Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Kepala & Leher* (pp. 58–68). Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
7. Gaddey, H. L., Wright, M. T., & Nelson, T. N. (2019). Otitis media: Rapid evidence review. *American Family Physician*, 100(6), 350–356.
8. Grace R. Pidwill.,Josie F., Gibson.,JobyCole.,Stephen A. Renshaw.,& Simon J. Foster. The Role of Macrophages in Staphylococcus aureus infection. *Frontiers in Immunology*.,vol 11, januari 2021:1-30
9. Iskandar, N., Soepardi, E., & Bashiruddin, J., et al (ed). 2007. *Buku Ajar IlmuKesehatanTelingaHidungTenggorokanKepaladanLeher*. Edisi ke6. Jakarta: BalaiPenerbit FKUI.
10. Ilechukwu, G. C., Ilechukwu, C. G. A., Ubesie, A. C., Ojinnaka, C. N., Emechebe, G. O., & Iloh, K. K. (2014). Otitis Media in Children: Review Article. *Open Journal of Pediatrics*, 04(01), 47–53. <https://doi.org/10.4236/ojped.2014.41006>
11. Khafidhoh, Z., Dewi, S. S., & Iswara, A. (2015). Efektvitas infusa kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC .) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* penyebab sariawan secara in vitro. *The 2nd University Research Coloquium 2015*, 31–37.

12. Mamontonur didih porotuo john waworuntu Olivia, pola bakteri aerob pada pasien dengan diagnosis otitis media supuratifakut di poliklinik THT-KL RSUP.PROF. DR.D KANDOU MANADO.,Jurnal e-biomedik (eBM), volume 3,hal 269-273.
13. Miftahendarwati. (2014). *Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix) Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans*. Universitas Hasanudin.
14. Moeloek, N. F. (2015). *Pembangunan Kesehatan Menuju Indonesia Sehat*. Retrieved from
15. Nathanael, J., Wijayanti, N., & Atmodjo, P. K. (2015). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) pada Sel HeLa Cervical Cancer Cell Line. *Universitas Atma Jaya ...*, 1–12.
16. Refdanita, Maksun R, Nurgani A, Endang P. Polakepekaankumanterhadapantibiotika di ruangrawatintensif RS Fatmawati Jakarta Tahun 2001 – 2002. *MakaraKesehatan*. 2004;8(2):41- 48
17. Rosaini, H., Halim, A., & Fatonah, D. (2020). Karakterisasi Sifat Fisikokimia Dispersi Padat Ofloxacin-PEG 4000 Dengan Perbandingan Tiga Formula Menggunakan Metode Co-Grinding. *Jurnal Farmasi Higea*, 12(2), 162–170.
18. Rosales, C. (2018). Neutrophil: A cell with many roles in inflammation or several cell types? *Frontiers in Physiology*, 9(FEB), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>
19. Rosales, C., Demarex, N., Lowell, C. A., & Uribe-Querol, E. (2016). Neutrophils: Their Role in Innate and Adaptive Immunity. *Journal of Immunology Research*, 2016, 2–4. <https://doi.org/10.1155/2016/1469780>
20. Schilder, A. G. M., Chonmaitree, T., Cripps, A. W., Rosenfeld, R. M., Casselbrant, M. L., Haggard, M. P., & Venekamp, R. P. (2016). Otitis media. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 1–19. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.63>
21. Setiabudy, R. (2017). Antimikrobal IAIN. In *Farmakologi dan Terapi Edisi Ke-6*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
22. Sucia, Y., Novi, Y., & Mitika. (2017). Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 2(1), 158–162.
23. Sumonrat Chanthaphon ,Suphitchaya Chanthachum , and Tipparat Hongpat tarakere Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. Against food-related microorganisms.,*Songklanakar J. Sci. Technol.* 30 (Suppl.1), 125-131, April 2008
24. Tracey A. Taylor; Chandrashekar G. Unakal. Book from StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 20 Jul 2017
25. Warsito, Noorhamdani, Sukardi, SuratmodanSusanti, R.D. (2017). Mikro enkapsulasi minyak jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan uji aktivitasnya sebagai anti bakteri. *Journal of Environmental Engineering & Sustainable Technology*. 4(1): 19- 25
26. Zamzamiyah, I. N., & Ashari, S. (2020). Eksplorasi dan Karakterisasi Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) di Kabupaten Tulungagung. *Jurnal Produksi Tanaman*, 8(11), 1041–1049.