

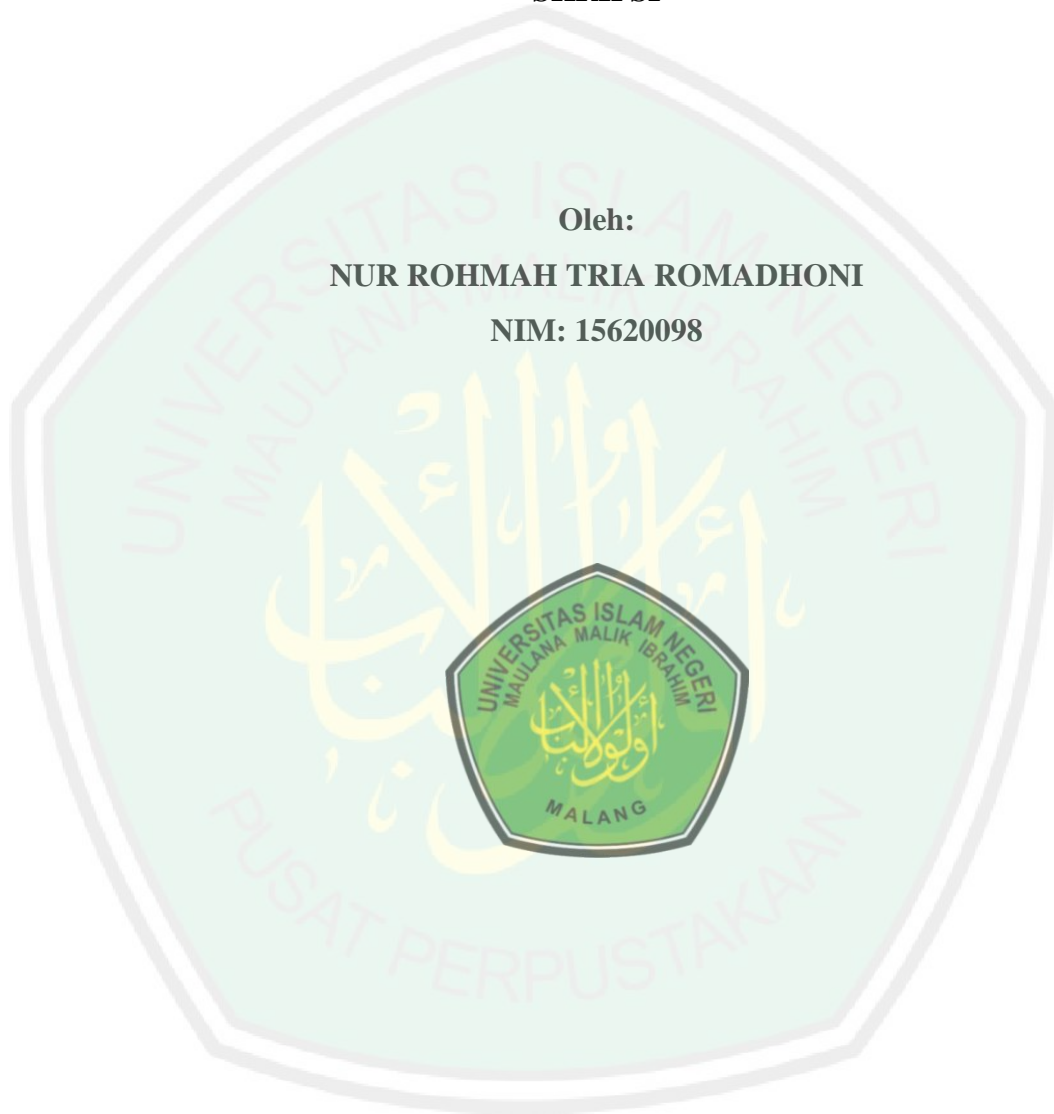
**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA NANOPARTIKEL KOMBINASI
Allium sativum Linn., *Curcuma mangga* Val. DAN *Acorus calamus* L.
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

NUR ROHMAH TRIA ROMADHONI

NIM: 15620098



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA NANOPARTIKEL KOMBINASI *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val., DAN *Acorus calamus* L. SECARA
IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:

NUR ROHMAH TRIA ROMADHONI

NIM. 15620098

Diajukan kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

**Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh
gelar Sarjana Sains (S.Si)**

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA NANOPARTIKEL KOMBINASI
Allium sativum Linn., *Curcuma mangga* Val., DAN *Acorus
calamus* L. SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:
NUR ROHMAH TRIA ROMADHONI
NIM: 15620098

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:
tanggal 07 Oktober 2020

Dosen Pembimbing I



Prof. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul M, M.Si
NIP. 19710919 200003 2 001

Dosen Pembimbing II



Mujahidin Ahmad, M. Sc
NIP. 19860512 201903 1 002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA NANOPARTIKEL KOMBINASI
Allium sativum Linn., *Curcuma mangga* Val., DAN *Acorus
calamus* L. SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:
NUR ROHMAH TRIA ROMADHONI
NIM. 15620098

Telah Diperiksa Dipertahankan di Depan Dewan Penguji
Skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu
Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 04 November 2020

Susunan Dewan Penguji		Tanda Tangan
Penguji Utama	: <u>Ir. Liliek Harianie AR, M. P</u> NIP 19620901 199803 2 001	()
Ketua Penguji	: <u>Priya Dewi Fitriyani, M. Sc</u> NIP 19900428201608012062	()
Sekretaris Penguji	: <u>Prof. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul M, M.Si</u> () NIP. 19710919 200003 2 001	
Anggota Penguji	: <u>Mujahidin Ahmad, M. Sc</u> NIP. 19860512 201903 1 002	()

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya, shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Baginda Rasulullah Muhammad SAW.

Karya ini saya persembahkan untuk orang-orang yang saya cintai dan segala pihak yang sangat berpengaruh besar atas perjalanan dan perjuangan yang tidak mudah untuk mencapai titik penyelesaian jenjang S1. Terimakasih yang tak terhingga.

Kepada orang-orang tersayang disekeliling saya sebagai bentuk ucapan terima kasih dan bentuk hormat dari saya. Terutama teruntuk kedua orang tua saya Bapak Samidi dan Ibu Srigiyati yang senantiasa memberikan do'a dan dukungannya sehingga saya bisa sampai di titik ini. Terimakasih atas segala perjuangan, pengorbanan dan kasih sayang yang telah diberikan kepada saya. Semoga Bapak dan ibuk panjang umur, senantiasa diberikan kesehatan dan selalu dalam lindungan Allah SWT. Terimakasih kepada saudara saya Fachrudin Mei Nur Rochim dan Imron Syahroni atas segala do'a, motivasi, semangat dan kasih sayang yang telah kalian berikan. Semoga kita selalu kompak dan bisa membahagiakan ibuk dan bapak.

Terimakasih untuk seluruh Dosen dan Laboran Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang. Terutama untuk Ibu Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku pembimbing saya. Terimakasih atas segala bantuan, bimbingan, dan motivasinya untuk kebaikan saya kedepannya. Semoga Ibu dan Bapak selalu diberikan kesehatan dan umur panjang dan semakin sukses kedepannya.

Terimakasih kepada sahabat dan teman-teman saya yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terimakasih atas segala dukungannya sampai saya bisa berada di titik ini dan memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Semoga Allah membalas semua kebaikan kalian.

MOTTO

إِنْ أَحْسَنْتُمْ أَحْسَنْتُمْ لِأَنْفُسِكُمْ

*“Jika kalian berbuat baik, sesungguhnya kalian
berbuat baik bagi diri kalian sendiri”
(QS. Al-Isra’: 7)*

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

*“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi
manusia” (HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni)*

PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Rohmah Tria Romadhoni
NIM : 15620098
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi
Allium sativum Linn., *Curcuma mangga* Val., dan *Acorus calamus* L. Secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan pengambilan data, tulisan, maupun pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini adalah hasil jiplakan, maka saya siap menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Malang, 07 Oktober 2020
Yang membuat pernyataan



Nur Rohmah Tria Romadhoni
NIM 15620098

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val., dan *Acorus calamus* L. Secara *In Vitro*” ini tidak dipublikasikan. Akan tetapi akses terbuka untuk umum dengan ketentuan hak Cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



KATA PENGANTAR

Puji syukur Allhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sekaligus tugas akhir ini dengan judul “Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum* (Linn.), *Acorus calamus* (L), dan *Curcuma mangga* Val., Secara In Vitro”. Selawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Abdul Haris, M,Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Mujahidin Ahmad, M.sc selaku dosen pembimbing biologi. Terimakasih atas kesabaran serta keikhlasan telah memberikan bimbingan, pengarahan dan dorongan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku dosen wali serta dosen penguji yang memberikan saran dan nasehat yang bermanfaat.
6. Ir. Liliek Harianie AR, M. P selaku dosen penguji yang telah memerikan kritik dan saran yang membangun yang membantu dalam terselesainya skripsi ini.
7. Seluruh dosen, Laboran Jurusan Biologi dan Staf Administrasi yang telah membantu dan memberikan kemudahan, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
8. Bapak, Ibu segenap keluargaku lainnya yang tak pernah lelah untuk tetap mendukung baik secara moril dan materil serta ketulusan doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

9. Teman-teman bimbingan Bu Bayyin khususnya Real, Meilinda, Hiba, Zizi, Mbak Sasa, Masduqi, dek Neni, Tri dan Malika yang selalu berjuang bersama dalam suka maupun duka selama berjalannya penelitian.
10. Teman-teman suka duka selama di kota Malang Nuri, Ambar, Rhesma, Syaf, Nawval, Luhur dan Zaka. Terima kasih atas kenangan indah selama di Malang. Semoga kalian semua sukses dan menjadi orang yang bermanfaat.
11. Keluarga besar Biologi, terkhusus untuk angkatan 2015, terimakasih atas semua dukungan, semangat, dan pertemanan yang terjalin.
12. Mas Ismail, Mbak Retno dan Mas Basyar dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, terimakasih atas segala bentuk dukungannya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Semoga Allah memberikan balasan atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Akhir kata, penulis berharap semoga karya sederhana ini dapat bermanfaat dan menjadi inspirasi bagi peneliti lain serta menambah khasanah ilmu pengetahuan bagi semua pembaca, Amiin.

Malang, Maret 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
صخلما	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.6 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Tanaman Dalam Al-Qur'an.....	9
2.2 Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> Linn	10
2.2.1 Kandungan Fitokimia Bawang Putih.....	12
2.2.2 Manfaat Bawang Putih.....	13
2.3 Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i>).....	14
2.3.1 Kandungan Fitokimia Jeringau.....	15
2.3.2 Manfaat Rimpang Jeringau.....	16
2.4 Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i>).....	17
2.4.1 Kandungan Fitokimia Temu Mangga.....	18
2.4.2 Manfaat Temu Mangga.....	19
2.5 Kandungan Fitokimia Ekstrak Kombinasi.....	20
2.6 Kitosan	20
2.7 Nanopartikel.....	22
2.8 Sintesis Nanopartikel Menggunakan Metode Gelasi Ionik.....	24
2.9 Karakteristik Nanopartikel Kombinasi.....	26
2.10 Mikroba Uji.....	27
2.10.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	38
2.10.2 <i>Escherichia coli</i>	30

2.10.3 <i>Candida albicans</i>	33
2.11 Antimikroba.....	34
2.12 Klindamisin.....	36
2.13 Nistatin.....	37
2.14 Metode Uji Aktivitas Antimikroba.....	38
a. Metode Difusi	38
b. Metode Dilusi.....	39
BAB III METODE PENELITIAN	41
3.1 Rancangan Penelitian	41
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	42
3.3 Variabel Penelitian	42
3.3.1 Variabel Bebas	42
3.3.2 Variabel Terikat	42
3.3.3 Variabel Terkendali	42
3.4 Alat dan Bahan	42
3.4.1 Alat Penelitian	42
3.4.2 Bahan	43
3.5 Prosedur Penelitian	43
3.5.1 Preparasi Sampel Tanaman.....	43
3.5.2 Ekstraksi dengan Maserasi.....	43
3.5.3 Pembuatan Nanopartikel Kombinasi.....	44
3.6 Uji Aktivitas Antimikro.....	45
3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	45
3.6.2 Pembuatan Media.....	45
3.6.3 Regenerasi Mikroba Uji.....	46
3.6.4 Pembuatan Suspensi Mikroba.....	46
3.6.5 Pembuatan Larutan Uji Nanopartikel Kombinasi.....	47
3.6.6 Uji Antimikroba Dengan Metode Difusi Cakram.....	47
3.6.7 Uji KHM dan KBM.....	48
3.6.8 Analisis Data.....	50
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	51
4.1 Uji Aktivitas Zona Hambat Nanopartikel Ekstrak Kombinasi.....	51
4.2 Uji KHM dan KBM Nanopartikel Kombinasi.....	57
BAB V PENUTUP	66
5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	89

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori Daya Hambat Antimikroba	39
Tabel 4.1. Rerata Diameter Daya Hambat Larutan Uji	51
Tabel 4.2. Hasil Pengamatan Uji KHM secara Kualitatif	57
Tabel 4.3 Hasil Perhitungan TPC uji KHM dan KBM(CFU/mL)	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Bawang Putih.....	11
Gambar 2.2 Tanaman jeringau.....	15
Gambar 2.3 Tanaman temu mangga.....	18
Gambar 2.4. Serbuk Kitosan.....	20
Gambar 2.5 Distribusi ukuran nanopartikel kombinasi terlapis kitosan dengan menggunakan PSA, dengan lama sonikasi 90 menit.....	26
Gambar 2.6 Hasil SEM nanopartikel kombinasi.....	27
Gambar 2.7 Struktur dinding sel bakteri gram negative.....	29
Gambar 2.8 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Gambar 2.9 Bakteri <i>Escherichia coli</i> Pada Pewarnaan Gram.....	31
Gambar 2.10 Struktur dinding sel bakteri gram negatif.....	32
Gambar 2.11 Struktur dinding sel <i>Candida albicans</i>	34
Gambar 2.12 Struktur kimia klindamisin	36
Gambar 2.13. Struktur Nistatin.....	37
Gambar 3.1: Pengukuran diameter zona hambat.....	48
Gambar 3.2. Metode <i>Broth Microdilution</i> berdasarkan Ketentuan CLSI.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur penelitian	85
Lampiran 2. Langkah kerja uji aktivitas antimikroba	86
Lampiran 3. Perhitungan	92
Lampiran 4. Data Hasil Uji Aktivitas Antimikroba	93
Lampiran 5. Gambar Dokumentasi Penelitian	96



ABSTRAK

Romadhoni, Nur Rohmah Tria. 2020. **Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum* (Linn.), *Curcuma mangga* Val. dan *Acorus calamus* (L.) Secara In Vitro**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M, M. Si; Pembimbing II: Mujahidin Ahmad, M.Sc.

Kata kunci: Nanopartikel gelasi ionik, Kitosan, Kombinasi ekstrak tanaman, Antimikroba.

Kombinasi umbi bawang putih (*Allium sativum* Linn.), rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) dan rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) merupakan komposisi dari jamu subur kandungan Madura yang digunakan oleh masyarakat untuk menjaga kesuburan (fertilitas). Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ketiga tanaman tersebut dinilai efektif untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme penyebab infeksi. Peningkatan jumlah mikroba *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* dalam vagina dapat menyebabkan vaginitis, infeksi tersebut dapat menyebabkan infertilitas. Sediaan nanopartikel diketahui mampu meningkatkan efektivitas suatu bahan alam sebagai antimikroba. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi nanopartikel kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau sebagai antimikroba. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium. Simplisia ketiga tanaman masing-masing dimaserasi, kemudian dibuat menjadi nanopartikel tersalut kitosan menggunakan metode gelasi ionik dengan komposisi bahan 36% bawang putih, 36% temu mangga dan 28% jeringau. Nanopartikel kombinasi konsentrasi 2,5% diuji zona hambat dengan metode difusi cakram. Selanjutnya diuji KHM dan KBM menggunakan metode mikrodilusi dengan variasi konsentrasi 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625% dan 0,313%. Hasil uji zona hambat nanopartikel kombinasi tertinggi secara berurutan yaitu *S. aureus* ($25,43 \pm 1,25$ mm), *E. coli* ($10,32 \pm 1,2$ mm) dan *C. albicans* ($13,77 \pm 0,68$ mm). Nilai KHM nanopartikel kombinasi pada bakteri *S. aureus* yakni pada konsentrasi 1,25% dan *E. coli* pada 2,5% dan belum menunjukkan nilai KHM pada *C. albicans*. Sedangkan nilai KBM nanopartikel kombinasi berada di konsentrasi 2,5% terhadap *S.aureus* dan 5% terhadap *E.coli*.

ABSTRACT

Romadhoni, Nur Rohmah Tria. 2020. **The Test of Nanoparticle Antimicrobial Activity of the Combination of *Allium sativum* (Linn.), *Curcuma mangga* Val. and *Acorus calamus* (L.) through In Vitro.** Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M, M. Si; Advisor II: Mujahidin Ahmad, M.Sc.

Keywords: Ionic gelation nanoparticles, Chitosan, Combination of plant extracts, Antimicrobial.

The combination of garlic tubers (*Allium sativum* Linn.), temu mangga rhizomes (*Curcuma mangga* Val.) And jeringau rhizomes (*Acorus calamus* L.) is a composition of the fertile herbal medicinal of Madura ingredients that used by the community to maintain fertility. The chemical compounds contained in the three plants are effective in inhibiting the growth of the microorganisms that cause infection. An increase in the number of microbes of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in the vagina can cause vaginitis, these infections can cause infertility. Nanoparticle preparations are able to increase the effectiveness of a natural substance as an antimicrobial. The purposes of the research are to determine the nanoparticle potential of the combination of garlic, temu mangga and jeringau as an antimicrobial. The research used laboratory experimental methods. The simplifies of the three plants were macerated respectively, then made into nanoparticles that were coated with chitosan using the ionic gelation method with the ingredients composition of 36% garlic, 36% temu mangga and 28% jeringau. Combined nanoparticles with a concentration of 2.5% were tested for the inhibition zone by the disc diffusion method. Furthermore, tested by MIC and MBC using the micro dilution method with various concentrations of 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625% and 0.313%. The results of the highest combination nanoparticle inhibition zone test respectively were *S. aureus* (25.43 ± 1.25 mm), *E. coli* (10.32 ± 1.2 mm) and *C. albicans* (13.77 ± 0.68 mm). The KHM value of combined nanoparticles in *S.aureus* bacteria was at a concentration of 1.25% and *E. coli* at 2.5% and there were no MIC value of *C. albicans*. The MBC value of combined nanoparticles was at a concentration of 2.5% in *S. aureus* and 5% in *E. coli*.

مستخلص البحث

رمضاني، نور رحمة تريا. 2020. اختبار نشاط الجسيمات النانوية المضادة للميكروبات مزيج من أليوم ساتيفوم (لين.) *Allium sativum* (Linn.)، كركم مانجو فال. *Curcuma mangga Val.* و أجوروس جلاموس (ل.) *Acorus calamus* (L.) في المختبر. رسالة الجامعي. قسم علم الحياة. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الحكومية الإسلامية مالانج. المشرف الأول: الأستاذة الدكتورة الطبية الحاجة بينة م، الماجستير، والمشرف الثاني: مجاهدين أحمد، الماجستير.

الكلمات المفتاحية: الجسيمات النانوية الجيلاتينية الأيونية، الكيتوزان، مزيج من المستخلصات النباتية، مضادات الميكروبات

مزيج درنات الثوم (*Allium sativum* Linn.) و جذمور تيمو مانجو (*Curcuma mangga* Val.) و جذمور جرينجاو (*Acorus calamus* L.) عبارة عن تركيبة من المكونات الطبية محتوي مادورا التي يستخدمها المجتمع للحفاظ على الخصوبة. تعتبر المركبات الكيميائية الموجودة في النباتات الثلاثة فعالة في تثبيط نمو الكائنات الحية الدقيقة التي تسبب العدوى. زيادة عدد ميكروبات *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Candida albicans* في المهبل يمكن أن تسبب التهاب المهبل، وهذه الالتهابات يمكن أن تؤدي إلى العقم. قد عرف أن مستحضرات الجسيمات النانوية تزيد من فعالية المادة الطبيعية كمضاد للميكروبات. الهدف من هذا البحث لتحديد إمكانية الجمع بين جزيئات الثوم والمانجو والجرينجاو النانوية كمضاد للميكروبات. استخدمت الباحثة في هذا البحث الطريقة التجريبية العملية. تم تعقيم بساطة النباتات الثلاثة، ثم تم تحويلها إلى جزيئات نانوية مغلقة بالكيتوزان باستخدام طريقة الهلام الأيونية مع مكونات مكونة من 36% ثوم، 36% مانجو و 28% مانجو. تم اختبار الجسيمات النانوية المجمع بتركيز 2.5% لمنطقة التثبيط بطريقة انتشار القرص. علاوة على ذلك، تم اختبار MIC و MBC باستخدام طريقة microdilution بتركيزات مختلفة من 5%، 2.5%، 1.25%، 0.625% و 0.313%. كانت أعلى نتائج اختبار منطقة تثبيط الجسيمات النانوية على التوالي هي *S. aureus* (1,25 ± 25,43 مم)، الإشريكية القولونية (10.32 ± 1.2 مم) و *C. albicans* (0,68 ± 13,77 مم). قيمة MIC للجسيمات النانوية المركبة في بكتيريا *S. aureus* بتركيز 1.25% والإشريكية القولونية 2.5% ولم تظهر قيمة MIC لـ *C. albicans*. بينما كانت قيمة MBC للجسيمات النانوية المركبة بتركيز 2.5% للمكورات العنقودية الذهبية و 5% للإشريكية القولونية.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang memiliki keanekaragaman hayati yang cukup besar. Sekitar 30.000 spesies tanaman yang ada merupakan tanaman obat dan rempah-rempah (Wasito, 2011). Pemanfaatan tanaman obat oleh masyarakat mencapai kurang lebih 1.000 jenis tanaman (Mudjijono, 2015).

Secara implisit Al-Qur'an memerintahkan kita untuk menelaah secara mendalam ayat-ayat kauniyah terkait tumbuh-tumbuhan, sebagaimana firman-Nya dalam Al-Qur'an Surah Luqman ayat 10 berikut:

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۗ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِن
كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (١٠)

Artinya : "Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakan padanya segala macam jenis binatang. Dan kami turunkan hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang baik" (Q.S Luqman 31:10).

Jika kita amati ayat di atas, khususnya pada frase " زَوْجٍ كَرِيمٍ " diartikan dalam tafsir *Al-Misbah* yakni tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang subur dan memiliki manfaat (Shihab, 2002). Sedangkan berdasarkan tafsir Ibnu Katsir (Muhammad, 2004) menjelaskan bahwa tanaman yang baik yaitu tanaman yang indah dipandang. Ayat di atas berdasarkan dua definisi mufasir dapat disimpulkan bahwasanya Allah menciptakan tumbuh-tumbuhan di muka bumi ini dengan disertai manfaat, yakni selain indah dipandang tumbuhan juga memiliki manfaat seperti bahan obat. Sebagaimana telah terbukti kebenarannya dengan ditemukannya berbagai macam tumbuhan yang digunakan sebagai resep pada jamu yang berkhasiat mengobati berbagai macam penyakit. Hal tersebut menjadi bukti nyata bahwasanya Firman Allah SWT di dalam Al-Qur'an merupakan sebaik-baiknya petunjuk kehidupan bagi seluruh umat manusia.

Penduduk Indonesia telah lama memanfaatkan banyak jenis tanaman untuk memenuhi kebutuhan akan kesehatan, salah satunya ialah dalam bentuk jamu. Masing-masing etnis memiliki kekhasan lokal pada ramuan jamunya yang meliputi cara pembuatan dan bahan-bahan yang tersedia pada masing-masing daerah. Salah satu etnis yang memiliki kekhasan pada ramuan jamunya yakni etnis Madura. Ciri khas ramuan jamu Madura memiliki rasa pahit segar dan beraroma khas rempah-rempah (Mudjijono, 2015). Salah satu jamu yang terkenal di Madura yakni jamu subur kandungan yang berkhasiat untuk perawatan atau pengobatan khususnya untuk wanita. Jamu subur kandungan Madura memanfaatkan 3 jenis tanaman yang mudah ditemui yakni umbi bawang putih, rimpang jeringau dan rimpang temu mangga. Ketiga tanaman tersebut terbukti mengandung senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas antioksidan dan sifat antimikroba (Ahmad, 2015).

Bawang putih (*Alium sativum* Linn) terbukti memiliki khasiat sebagai tanaman obat. Bawang putih diketahui mengandung zat kimia berupa allicin, tanin, senyawa fenolik dan minyak atsiri (Darmadi *et al.*, 2013), saponin, flavonoid dan alkaloid (Haryati, 2014). Zat kimia yang terkandung di dalam bawang putih memiliki peran sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas, selain itu menurut Barnes (2002), senyawa allicin dalam bawang putih berperan sebagai antibakteri. Senyawa yang terkandung di dalam bawang putih bekerja secara sinergis sebagai antibakteri dengan merusak dinding sel, melisis sel bakteri dan menghambat pembentukan asam amino yang akan mengakibatkan kematian pada bakteri (Soraya *et al.*, 2018).

Temu mangga (*Curcuma mangga* Val) memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, nilai IC₅₀ pada temu mangga mencapai 32.482µg/mL yang menandakan temu mangga memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dan mampu menangkal radikal bebas dalam tubuh (Ahmad, 2015). Sarjono dan Mulyani (2007) menyatakan, temu mangga memiliki kandungan senyawa kurkuminoid, polifenol, minyak atsiri dan flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antimikroba. Senyawa flavonoid pada temu mangga mampu merusak dinding sel dan menghambat sintesis protein pada bakteri (Adila *et al.*, 2013). Minyak atsiri yang terkandung pada temu mangga dapat membunuh bakteri dengan mengganggu

proses terbentuknya membran atau dinding sel, sehingga tekanan osmosis sel terganggu dan mikroba mengalami kematian (Sitepu *et al.*, 2012).

Jeringau (*Acorus calamus* L) merupakan tanaman yang menyerupai rumput dan banyak tumbuh liar di sekitar sungai, sawah atau rawa-rawa. Rimpang jeringau memiliki aroma sangat kuat yang mengandung minyak atsiri (Anisah, 2014). Uji fitokimia ekstrak metanol jeringau menunjukkan hasil positif untuk golongan senyawa alkaloid, flavonoid dan polifenol (Wulandari, 2015). Senyawa aktif pada rimpang jeringau berperan penting sebagai antimikroba dan antikanker. Ekstrak rimpang jeringau memiliki nilai KHM sebesar 4,0 % dengan diameter hambat sebesar 6,67 mm untuk bakteri *E. coli*, sedangkan untuk bakteri *S. aureus* memiliki nilai KHM sebesar 0,4 % dengan diameter hambat sebesar 8,83 mm (Rita, 2017). Ekstrak etanol rimpang jeringau terbukti memiliki nilai KHM sebesar 0,5% pada jamur *Candida albicans* (Rita *et al.*, 2017). Ketiga mikroba tersebut merupakan mikroba yang terdapat pada vagina, apabila dalam jumlah yang berlebih akan menyebabkan gangguan fertilitas pada wanita.

Salah satu penyakit yang sering menyerang organ reproduksi wanita adalah keputihan. Keputihan dapat disebabkan oleh adanya pertumbuhan mikroorganisme seperti *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang jumlahnya melebihi batas normal saat terjadinya peningkatan pH vagina. Peningkatan pH vagina, akan menyebabkan kematian bakteri-bakteri baik seperti golongan *Lactobacilli* dan *Corynebacterium* yang bertugas memproduksi antibiotik alami untuk mengurangi bakteri lain dalam vagina. Sehingga dengan berkurangnya bakteri baik, maka akan memfasilitasi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang berlebih. Hal tersebut dapat mengakibatkan vaginitis yang menjadi penyebab keputihan abnormal dan dapat mengakibatkan kemandulan (Nay *et al.*, 2019).

Sebagian besar tanaman obat menunjukkan aktivitas in-vivo yang kurang karena memiliki kelarutan rendah di dalam lemak. Hal ini menyebabkan kurangnya bioavailabilitas dan penyerapan fungsi berbagai komponen aktif dalam tanaman obat, maka perlu konsumsi berulang dan dosis yang besar untuk mendapatkan fungsi yang optimal (Ardila, 2017). Zhang *et al.* (2007) menyatakan kelarutan

senyawa tanaman dalam saluran pencernaan yang rendah sehingga menyebabkan penyerapan dalam plasma darah juga rendah.

Segala macam penyakit yang Allah turunkan merupakan suatu cobaan bagi hamba-Nya. Akan tetapi dengan segala rahmat-Nya, Allah menurunkan penyakit sekaligus obat yang mampu menyembuhkannya. Hal tersebut sesuai dengan hadist shohih dari Ibnu Mas'ud, yakni Rasulullah bersabda :

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً، جَهْلُهُ مِنْ جَهْلِهِ وَعَلِمُهُ مِنْ عِلْمِهِ

Artinya : *“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.”* (HR. Ahmad, Ibnu Majah dan Al-Hakim, yang disepakati oleh Adz-Dzahabi atas keshahihannya (Takhrij Al-Arnauth atas Zadul Ma'ad, 4/12-13)).

Pelajaran yang dapat diambil dari hadist shahih di atas adalah Allah SWT menurunkan suatu penyakit beserta obat yang mampu menyembuhkannya. Di sisi lain Allah juga menganugrahkan akal fikiran kepada manusia untuk berpikir dan terus berusaha mencari obat yang tepat untuk mengobati suatu penyakit. Hadist di atas dapat menjadi motivasi untuk terus menemukan obat yang tepat dan berkhasiat dalam menyembuhkan suatu penyakit.

Salah satu solusi dalam pencarian obat yakni dengan melakukan rekayasa nanoteknologi pada sediaan jamu. Metode nanoteknologi bertujuan mengecilkan ukuran partikel dan memperluas permukaan obat sehingga memudahkan obat menyebar dalam darah dan lebih akurat mencapai target (Martien *et al.*, 2012). Nanopartikel dianggap sebagai agen pembawa obat yang bagus karena memiliki ukuran yang kecil, sifat fisik dan kimia yang berbeda sehingga berbagai senyawa kimia dapat dengan mudah melekat (Raj, 2015).

Proses pembuatan nanopartikel memanfaatkan kitosan sebagai pembawa (*carrier*) pada sistem penghantaran obat. Penggunaan kitosan sebagai *carrier* sangat menjanjikan untuk meningkatkan bioavailabilitas biomolekul, karena memiliki kemampuan difusi dan penetrasi yang lebih baik ke dalam lapisan mukus. Selain itu penggunaan kitosan dikarenakan memiliki sifat-sifat istimewa seperti tidak beracun, mampu mengikat air, tidak larut dalam pelarut organik, larut dalam

asam, serta mampu membentuk penyalut pada sistem penghantaran obat dalam bentuk nanopartikel (Alasalvar dan Taylor, 2002).

Sampel nanopartikel yang digunakan adalah hasil produksi menggunakan metode gelas ionik. Metode gelas ionik digunakan karena prosesnya yang sederhana, tidak menggunakan pelarut organik dan mudah dikontrol (Mardiyati *et al.*, 2012). Metode lain yang digunakan dalam produksi nanopartikel ialah ultrasonikasi menggunakan gelombang beramplitudo tinggi dan frekuensi rendah. Metode sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik yang sangat efektif dalam membentuk materi hingga berukuran nano. Berdasarkan penelitian Rahmi (2013), diperoleh penurunan ukuran partikel sebesar 30 kali dengan menggunakan metode ultrasonikasi.

Teknologi nano telah lama dimanfaatkan dalam berbagai aspek salah satunya yakni sebagai antimikroba. Penelitian Rismana *et al.* (2013) menyebutkan bahwa aktivitas antimikroba nanopartikel ekstrak manggis-pegagan yang dipreparasi dengan metode gelas ionik memiliki luas penghambatan yang lebih besar dibandingkan bentuk ekstrak manggis-pegagan dalam menghambat bakteri *Propionibacterium acnes*. Abirami dan Sudharameshwari (2017) berdasarkan hasil pengamatannya pada nanopartikel silver kombinasi ekstrak daun *Cardiospermum halicacabum* dan *Butea monosperma* yang diproduksi menggunakan metode reduksi kimia menunjukkan aktivitas antibakteri dengan membentuk zona hambat lebih besar pada bakteri *Escherichia coli*, *Streptococcus aureus*, *Pseudomonas*, *Bacillus cereus* dan *Proteus vulgaris* dibandingkan dengan Ampicilin. Penelitian Mahendiran *et al.* (2017) menunjukkan aktivitas antibakteri nanopartikel seng oksida ekstrak *Aloe vera* dan *Hibiscus sabdariffa* yang diproduksi dengan metode presipitasi memiliki aktivitas antimikroba lebih baik terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan antibiotik golongan streptomisin.

Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji antimikroba nanopartikel kombinasi tanaman bawang putih, temu mangga dan jeringau dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*. Pengujian yang

dilakukan meliputi pengamatan zona hambat, uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Pemanfaatan teknologi nano diharapkan mampu meningkatkan kemampuan suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan mikroba secara lebih optimal dan dapat meningkatkan dispersi suatu senyawa bioaktif dalam tubuh secara lebih efektif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, maka diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana daya hambat nanopartikel kombinasi *Allium sativum*, *Acorus calamus* dan *Curcuma mangga* terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ?
2. Berapa nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) nanopartikel kombinasi *Allium sativum*, *Acorus calamus* dan *Curcuma mangga* terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui daya hambat nanopartikel kombinasi (*Allium sativum*, *Acorus calamus* dan *Curcuma mangga*) terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) nanopartikel kombinasi *Allium sativum*, *Acorus calamus* dan *Curcuma mangga* terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan setelah penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Manfaat secara teoritis hasil penelitian dapat digunakan sebagai referensi bagi penelitian mengenai nanopartikel kombinasi *A. sativum*, *A. calamus* dan *C. mangga* sebagai antimikroba.
2. Memberikan informasi mengenai kemampuan ekstrak nanopartikel kombinasi tanaman bawang putih, temu mangga dan jeringau dalam menghambat pertumbuhan mikroba penyebab infertilitas.
3. Menambah pengetahuan masyarakat mengenai pemanfaatan potensi bahan alam *A. sativum*, *A. calamus* dan *C. mangga* secara lebih baik dengan teknologi nanopartikel.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Simplisia umbi bawang putih (*Allium sativum* Linn.), rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dan rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) diperoleh dari UPT. Materia Medica Batu.
- b. Pembuatan nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik dengan polikation kitosan dan polianion STTP (*Sodium Tripoliposfat*).
- c. Konsentrasi nanopartikel kombinasi yang digunakan dalam uji kertas cakram ialah 2,5%.
- d. Konsentrasi nanopartikel kombinasi yang digunakan dalam metode uji KHM dan KBM adalah 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625% dan 0,313%.
- e. Mikroba yang digunakan adalah *Candida albicans* (CV.1423), *Staphylococcus aureus* (1117-SV) dan *Escherichia coli* (1906-8V) isolat vagina yang diperoleh dari Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya.
- f. Parameter yang diamati adalah Zona hambat dengan metode *difusi agar* (Kirby Bauer) dan KHM, KBM menggunakan metode dilusi cair.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Dalam Al-Qur'an

Allah SWT menyebutkan dan menjelaskan perihal tanaman-tanaman pada beberapa surah Al-Qur'an salah satunya yakni pada surah Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (٧)

Artinya: “*dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tanaman yang baik?*” (QS. Asy-Syuara (:7)).

Surat Asy-Syu'ara di atas secara implisit menunjukkan akan perintah Allah SWT kepada manusia sebagai kholifah di muka bumi ini dan sebagai satu-satunya makhluk yang dikaruniai akal fikiran untuk memikirkan betapa banyaknya Allah menumbuhkan tanaman dengan adanya kandungan kebaikan untuk manusia. Shihab (2002) menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Ayat di atas juga menjelaskan bahwasanya, Allah SWT menciptakan berbagai jenis tumbuhan di bumi ini dan semua itu tiada yang sia-sia. Manusia yang telah dibekali akal oleh Allah SWT mempunyai kewajiban untuk memikirkan, mengkaji serta meneliti segala yang telah Allah SWT berikan. Quthb (2009) dalam bukunya menjelaskan bahwa tumbuh-tumbuhan itu mulia dengan segala kehidupan yang ada didalamnya yang bersumber dari Allah SWT.

Allah SWT menumbuhkan bermacam-macam tanaman disertai dengan manfaat. Salah satu tanaman yang disebutkan Allah dalam Al-Qur'an dan telah terbukti memiliki manfaat adalah jahe. Sebagaimana firman Allah dalam surat Al Insan ayat 17 berikut:

وَيُسْقَوْنَ فِيهَا كَأْسًا كَانَ مِزَاجُهَا زَنْجَبِيلًا (١٧)

Artinya: “*Di dalam surga itu mereka diberi minum segelas (minuman) yang campurannya adalah jahe*” (QS. Al Insan [76] ayat 17).

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir (Muhammad, 2004) minuman yang diberikan merupakan khamr surga yang campurannya adalah jahe yang diambil dari mata air surga Salsabil, yaitu mata air yang airnya mudah ditelan dan terasa enak di tenggorokan. Berdasarkan Tafsir Nurul Qur'an oleh Sayyid Kalam Faqih, beliau mengutip dari perkataan Ibnu Abbas bahwa “ kenimatan-kenikmatan yang Allah sebutkan dalam Al-Qur'an adalah nama yang kita kenal” sehingga mudah kita pahami. Penyebutan *Zanjabil* adalah merujuk pada tanaman akar-akaran yang memiliki aroma yang disukai oleh orang arab (Faqih, 2006). Riwayat Ibnu Abbas menyebutkan bahwa makanan, minuman, mata air, buah-buahan dan sebagainya yang disebutkan di dalam Al-Qur'an, tidak memiliki kesamaan dan tandingan antara yang di surga dengan yang di bumi. Karena air minum tersebut berasal dari mata air surga Salsabil, sehingga kesamaan hanya terletak pada namanya, sedangkan rasanya jauh lebih lezat.

Jahe merupakan salah satu jenis tanaman rimpang yang masuk dalam famili *Zingiberaceae* yang memiliki umbi akar di bawah tanah. Hal tersebut memiliki kesamaan dengan temu mangga dan jeringau. Tim TPC (2012) menyatakan tanaman herba berakar rimpang memiliki akar yang serupa. Selain itu, dalam ayat yang lain Allah berfirman:

وَإِذْ قُلْتُمْ يَا مُوسَىٰ لَنْ نَصْبِرَ عَلَىٰ طَعَامٍ وَاحِدٍ فَادْعُ لَنَا رَبَّكَ يُخْرِجْ لَنَا مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ مِنْ بَقْلِهَا وَقِثَّائِهَا وَفُومِهَا وَعَدَسِهَا وَبَصَلِهَا ۗ قَالَ أَتَسْتَبْدِلُونَ الَّذِي هُوَ أَدْنَىٰ بِالَّذِي هُوَ خَيْرٌ ۗ اهْبِطُوا مِصْرًا فَإِنَّ لَكُمْ مِمَّا سَأَلْتُمْ ۗ وَضُرِبَتْ عَلَيْهِمُ الذَّلِيلَةُ وَالْمَسْكَنَةُ وَبَاءُوا بِغَضَبٍ مِنَ اللَّهِ ۗ ذَلِكَ بِأَنَّهُمْ كَانُوا يَكْفُرُونَ بِآيَاتِ اللَّهِ وَيَقْتُلُونَ النَّبِيِّينَ بِغَيْرِ الْحَقِّ ۗ ذَلِكَ بِمَا عَصَوْا وَكَانُوا يَعْتَدُونَ

Artinya: *Dan (ingatlah), ketika kamu berkata: "Hai Musa, Kami tidak bisa sabar (tahan) dengan satu macam makanan saja. Sebab itu mohonkanlah untuk kami kepada Tuhanmu, agar Dia mengeluarkan bagi kami dari apa yang ditumbuhkan bumi, yaitu sayur-mayurnya, ketimunnnya, bawang putihnya, kacang adasnya dan bawang merahnya". Musa berkata: "Maukah kamu mengambil yang rendah sebagai pengganti yang lebih baik ? Pergilah kamu ke suatu kota, pasti kamu memperoleh apa yang kamu minta". Lalu ditimpahkanlah kepada mereka nista dan kehinaan, serta mereka mendapat kemurkaan dari Allah. Hal itu (terjadi) karena mereka selalu mengingkari ayat-ayat Allah dan membunuh para Nabi yang memang tidak dibenarkan. Demikian itu (terjadi) kerana mereka selalu berbuat durhaka dan melampaui batas” (QS. Al Baqarah [1]: 61).*

Ayat-ayat diatas telah membuktikan bahwasanya Allah menciptakan tanaman-tanaman yang baik bagi manusia. Tanaman yang baik dapat diartikan sebagai tumbuhan yang bermanfaat dan dapat digunakan oleh setiap makhluk hidup, termasuk dalam hal pengobatan. Tumbuhan yang memiliki khasiat obat termasuk dalam anugerah dan kekuasaan yang telah Allah berikan bagi seluruh ciptaan-Nya. Karunia Allah tersebut harus selalu dipelajari dan dilestarikan agar dapat terus mengembangkan potensi di dalamnya (Savitri, 2008). Allah telah menciptakan segala yang ada di bumi agar dapat dimanfaatkan demi kepentingan dan kemaslahatan umat manusia sebagai khalifah fil ardh. Seperti halnya tanaman temu mangga (*Curcuma mangga*), jeringau (*Acorus calamus*) dan bawang putih (*Allium sativum*) yang juga bermanfaat sebagai pengobatan fertilitas mengacu pada jamu subur kandungan produksi Madura.

2.2 Bawang Putih (*Allium sativum* Linn)

Klasifikasi tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah sebagai berikut (Hutapea, 2000) :

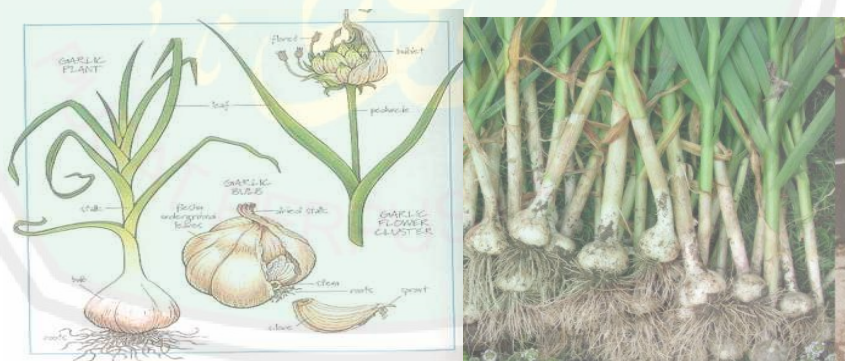
Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Class : Monocothyledon
 Ordo : Liliales
 Famili : Liliaceae
 Genus : *Allium*
 Spesies : *Allium Sativum* Linn.

Bawang putih merupakan salah satu jenis tanaman umbi lapis yang biasa dimanfaatkan sebagai bumbu masakan di wilayah Asia. Keberadaan bawang putih selain menjadi bumbu masakan juga sering dimanfaatkan sebagai bahan medis pada pengobatan tradisional (Bayan *et al.*, 2014). Bangsa Romawi telah memanfaatkan bawang putih sebagai bahan ramuan obat penambah stamina (Banerjee dan Maulik, 2002; Yarnell, 1999). Masyarakat Indonesia menggunakan bawang putih selain sebagai bumbu masakan juga memanfaatkannya untuk mengobati berbagai macam

penyakit seperti hipertensi, luka memar, ambeien, cacangan, gangguan pernafasan dan penurunan kolesterol (Thomas, 2000).

Bawang putih termasuk dalam famili *Liliaceae* yang tumbuh membentuk umbi lapis berwarna putih. Bawang putih memiliki helaian daun panjang, pipih membentuk pita yang terdiri dari 7-10 kelopak daun yang kuat dan tipis. Daun bawang putih membungkus kelopak daun yang lebih muda hingga membentuk batang semu (Kuswardani 2015). Batang bawang putih yang sebenarnya berada di dalam tanah, pada pangkal batang tumbuh akar berbentuk serabut kecil yang panjangnya tidak lebih dari 10 cm dan berada pada permukaan tanah yang dangkal seperti pada gambar 2.1. Fungsi dari akar tersebut yaitu sebagai alat penghisap zat-zat hara dalam tanah (Santoso, 2000).

Umbi bawang putih terdiri atas 8-20 siung yang masing-masing dibungkus oleh selaput tipis dari pelepah daun dan memiliki bentuk bulat agak lonjong dapat dilihat pada gambar 2.1 (Kemper, 2005). Siung bawang putih pada bagian dalamnya terdapat lembaga yang dapat tumbuh menerobos pucuk siung yang menjadi tunas baru, serta daging pembungkus lembaga yang berfungsi sebagai pelindung sekaligus tempat persediaan makanan. Bagian dasar umbi pada hakikatnya merupakan batang pokok yang mengalami rudimentasi (Santoso, 2000).



Gambar 2.1 Tanaman Bawang Putih

Bawang putih memiliki bunga hemaprodit dan memiliki susunan bunga majemuk yang berbentuk seperti bola, berukuran kecil dan memiliki tangkai yang pendek. Keberadaan bunga bawang putih seringkali dibuang oleh petani agar umbi yang tumbuh memiliki ukuran lebih besar (Hernawan, 2003). Bawang putih memiliki tiga cara reproduksi yakni melalui umbi lapis (siung), umbi kecil (bulbi)

yang berasal dari bunga dan dari biji. Reproduksi bawang putih pada pertanian dilakukan secara aseksual yakni dengan menanam umbi secara langsung karena dirasa lebih mudah (Meredith dan Drucker, 2012).

Bawang putih dapat tumbuh subur di wilayah dataran tinggi dengan tanah yang bertekstur lempung berpasir ringan (Kemper, 2000). Arisandi dan Andriani (2008) menyatakan bawang putih dapat tumbuh dengan subur pada jenis tanah grumusol yang gembur, memiliki drainase baik, serta memiliki pH tanah 6-6,8. Suhu optimal untuk pertumbuhan bawang putih yakni pada suhu 20-25⁰ C dengan curah hujan 1.200 – 2400 mm pertahun dan kondisi lahan tidak sampai tergenang air (Santoso, 2000).

2.2.1 Kandungan Senyawa Fitokimia Bawang Putih (*Allium Sativum*).

Bawang putih mengandung senyawa-senyawa yang berpotensi secara klinis. Kemper (2005) menyatakan bahwasanya bawang putih memiliki 33 senyawa sulfur, 17 asam amino, beberapa enzim dan mineral. Kandungan senyawa kimia pada bawang putih meliputi protein, karbohidrat, sterol, flavonoid, saponin, triterpenoid, minyak atsiri dan senyawa kimia paling dominan pada bawang putih ialah allicin (Cutler, 2004). Ekstrak etanol bawang putih diketahui memiliki nilai IC50 sebesar 79 µg/mL yang menandakan bahwa kadar antioksidan yang aktif dengan adanya kandungan steroids, flavonoid, diterpene, triterpen, glikosida dan alkaloid (Ahmad, 2015).

Senyawa paling aktif yang terdapat pada umbi bawang putih adalah senyawa *allicin*. senyawa tersebut terbentuk karena adanya penghancuran atau pemotongan yang mengakibatkan aktifnya enzim Allinase yang akan merubah senyawa allin menjadi *allicin* (Amagase *et al.*, 2001). *Allicin* merupakan senyawa yang menimbulkan bau sulfur atau belerang pada bawang putih. Senyawa tersebut terbukti memiliki beberapa fungsi fisiologi seperti antimikroba (Bayan *et al.*, 2014). Senyawa belerang yang terkandung bertanggung jawab atas rasa, aroma dan sifat-sifat farmakologi dari umbi bawang putih (Hernawan dan Setyawan, 2003).

2.2.2 Manfaat Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

Bawang putih selain digunakan sebagai bumbu masakan juga banyak digunakan dalam bidang medis, salah satunya yakni sebagai antimikroba. Kandungan minyak atsiri dan *allicin* pada bawang putih telah terbukti mampu membunuh atau menekan pertumbuhan bakteri-bakteri yang menyebabkan penyakit (Aniputri *et al.*, 2014). Pada penelitian Wahjuningrum (2010) diketahui senyawa *allicin* pada bawang putih bekerja dengan cara bergabung dengan protein dan memblok enzim bakteri yang memiliki gugus thiol yang pada akhirnya akan menghambat pertumbuhan bakteri. Lingga dan Rustama (2005) menyatakan ekstrak bawang putih memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif

Ekstrak bawang putih telah terbukti mampu mengganggu aktivitas berbagai macam bakteri seperti *Streptococcus sobrinus*, *Clostridium sp*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyce viscosus*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Salmonella typhimurium* (Soraya *et al.*, 2010). Ekstrak bawang putih mengandung asam lemak folatil yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* (Muchtarmah *et al.*, 2017). Pada penelitian lainnya diketahui manfaat lain bawang putih selain sebagai antimikroba juga berkhasiat sebagai antioksidan, penurun kadar kolesterol, anti-hipertensi, pemacu fibrinolisis, antivirus dan antikanker (Hernawan, 2003).

Bawang putih telah terbukti secara epidemiologi memiliki potensi mengurangi resiko penyakit kanker, penyakit kardiovaskular dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Bayan *et al.*, 2014). Manfaat lain dari bawang putih ialah seperti antivirus, antijamur dan antiprotozoal (Muchtarmah *et al.*, 2017). Bawang putih secara tradisional telah lama dipercaya mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti sembelit, gangguan pernafasan, sakit kepala, ambeien, luka memar, cacingan, insomnia, flu dan gangguan saluran kencing (Thomas, 2000).

2.3 Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Klasifikasi tanaman bawang putih (*Acorus calamus* L.) adalah sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Kingdom : Plantae
 Divisio : Magnoliophyta
 Classis : Liliopsida
 Sub classis : Arecidae
 Ordo : Arales
 Familia : Araceae
 Genus : Acorus
 Spesies : *Acorus calamus* L.

Jeringau termasuk dalam famili *Acoraceae* yang merupakan keluarga dari tanaman talas-talasan yang tidak berkayu (Wulandari, 2015). Jeringau adalah salah satu jenis tanaman obat yang banyak tumbuh liar di daerah dengan tanah lembab atau cukup air. Jeringau dapat dengan mudah ditemui pada daerah persawahan, rawa-rawa, pinggir sungai ataupun tempat-tempat yang tergenang air (Susanti, 2016).

Karakteristik morfologi dari tanaman jeringau yakni memiliki bentuk mirip rumput dengan tinggi sekitar 75 cm, memiliki daun tunggal berbentuk lanset dengan ujung runcing, tepi rata, memiliki panjang sekitar 60 cm dan tulang daun menonjol seperti pada gambar 2.2 (a) (Balakumbahan *et al.*, 2010). Jeringau memiliki bunga majemuk yang berbentuk bongkol dengan ujung meruncing, berwarna putih yang tumbuh pada ketiak daun seperti pada gambar 2.2 (b). Batang jeringau merupakan batang basah yang membentuk rimpang berwarna merah jambu pada bagian luar dan berwarna putih kusam pada bagian dalam dapat dilihat pada gambar 2.2 (c).



Gambar 2.2 a. Tanaman jeringau. b. Bunga jeringau. c. Rimpang jeringau (Saenong, 2016 dan Situs Tanaman Obat Indonesia, 2009).

Bagian tanaman jeringau yang biasa dimanfaatkan sebagai bahan obat yakni pada bagian rimpangnya. Rimpang jeringau memiliki daging berwarna putih dan akan berubah menjadi merah muda apabila dalam kondisi kering, memiliki aroma sangat kuat menyerupai rempah-rempah dengan rasa pedas dan pahit (Onasis, 2001). Rimpang jeringau dapat dimanfaatkan apabila tanaman sudah mencapai tinggi 1 meter dengan diameter rimpang 3 cm (Sastrohamidjojo, 2009). Rimpang jeringau memiliki bentuk bulat panjang beruas dan banyak dikelilingi akar-akar serabut. Akar jeringau mulai berkembang setelah 10-15 hari ditanam yang dapat berkembang hingga mencapai panjang 60-70 cm saat usia mencapai 1 tahun (Hasan, 2015).

2.3.1 Kandungan Senyawa Fitokimia Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Kandungan senyawa fitokimia jeringau yang paling banyak dimanfaatkan yakni minyak atsiri. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan Anisah (2014) pada ekstrak etanol jeringau didapati kandungan flavonoid dan polifenol. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak rimpang jeringau diketahui positif mengandung alkaloid dan triterpenoid (Mughtaromah *et al.*, 2017). Ahmad (2015) menyatakan rimpang jeringau positif mengandung steroid, glikosida, diterpen, triterpen, alkaloid, fenol, tanin, flavonoid. Nandakumar (2013) menyatakan bahwasanya pada rimpang jeringau mengandung beberapa zat aktif yakni diantaranya sequesterpenes, β -asarone, α -asarone, triterpenoid, β -daucosterol dan polisakarida larut air.

Sihite (2009) mendapati kandungan daun jeringau yakni adanya minyak atsiri. Minyak atsiri pada jeringau dapat digunakan sebagai pengusir serangga dan antimikroba. Menurut Onasis dan Aidil (2001) kandungan senyawa kimia pada minyak atsiri meliputi asaron, eugenol, kalamediol, kalameon, isokalamediol, preisokalmendiol, akorenin, akonin, akoragermarkon, akolamonin, isoakolamin, siobunin, isosiobunin dan episiobunin. Kandungan lain dari jeringau yakni adanya resin dan amilum (Sihite, 2009).

2.3.2 Manfaat Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Tanaman jeringau secara turun-temurun telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dalam mengobati berbagai macam penyakit. Bagian dari tanaman yang paling sering dimanfaatkan adalah rimpangnya. Rimpang jeringau dipercaya mampu meningkatkan fertilitas pada organ kewanitaan karena memiliki aktifitas antioksidan dan antimikroba yang cukup tinggi. Pemanfaatan lain dari rimpang jeringau yakni dengan dijadikan minyak yang dinamakan calamus oil. Penggunaan minyak calamus sangat luas dan beragam yakni digunakan untuk krim kecantikan, sabun dan lain-lain (Mughtaromah *et al.*, 2018). Minyak jeringau juga dipercaya akan khasiatnya untuk mengobati penyakit maag, asma, diare, disentri, kolik dan cacingan (Sastrohamidjojo, 2009).

Pemanfaatan rimpang jeringau lainnya yakni sebagai antijamur dan antibakteri. Hal tersebut berkaitan dengan melimpahnya kandungan alkaloid dan triterpenid yang terdapat pada bagian rimpangnya (Mughtaromah *et al.*, 2018). Pada penelitian Jawetz *et al.*, (2005) senyawa alkaloid yang terdapat pada rimpang jeringau memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh sehingga menyebabkan kematian pada sel bakteri. Hasil penelitian Susanti (2016) menunjukkan ekstrak rimpang jeringau memiliki daya antifungal terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Ledoh *et al.*, (2013) menyatakan kandungan minyak atsiri rimpang jeringau terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan membentuk diameter zona hambat masing-masing 6,67 mm dan 8,83 mm. Senyawa minyak atsiri yang berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan mikroba adalah senyawa eusaron dan asaron (Rita *et al.*, 2017).

Rimpang jeringau oleh masyarakat pedalaman biasa digunakan sebagai pengobatan pada penyakit demam berdarah (Raina, 2003). Rimpang jeringau telah terbukti mempunyai khasiat yang sangat melimpah yakni biasa digunakan sebagai obat anti radang, anti infeksi, anti racun, penurun panas, anti lepra, anti sipilis, hipertensi, obat sakit perut dan penyakit kulit (Purwanti, 2016). Menurut penelitian Verma (2015) adanya kandungan senyawa asaron dalam jeringau memiliki manfaat

sebagai pembunuh serangga-serangga kecil yang menjadi hama pada tanaman. Serangga lain yang dapat terbunuh adalah nyamuk, kecoa dan semut.

2.4 Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

Sistematika tanaman Temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) adalah sebagai berikut (Hutapea, 1993) :

Kingdom : Plantae
 Divisio : Magnoliophyta
 Classis : Liliopsida
 Ordo : Zingiberales
 Familia : zingiberaceae
 Genus : Curcuma
 Spesies : *Curcuma mangga* Val.

Temu mangga atau yang biasa disebut dengan temu putih merupakan salah satu suku Zingiberaceae yang memiliki karakteristik menyerupai tanaman kunyit. Tanaman ini biasa dimanfaatkan rimpangnya untuk bahan jamu tradisional dan juga bumbu masakan (Susanti, 2017). Berdasarkan penampilan luar cukup sulit membedakannya dengan kunyit, namun berdasarkan karakteristik dalamnya memiliki perbedaan warna yakni pada temu mangga memiliki warna kuning muda dengan rasa perpaduan mangga dan wortel (Uyo, 2017).

Secara morfologi temu mangga memiliki daun berbentuk lonjong, berpelepah, tepi rata, ujung dan pangkal daun meruncing, tulang daun menyirip dan merupakan daun tunggal seperti pada contoh gambar 2.4 (a). Temu mangga memiliki bunga majemuk yang muncul dari bagian ujung batang, memiliki mahkota bunga berwarna kuning, dengan adanya benang sari yang menempel pada mahkota, kepala putik bulat dan kuning. Batang temu mangga tergolong batang semu, tidak berkayu, tegak dan membentuk rimpang di dalam tanah. Rimpang berbentuk bulat, dengan kulit berwarna coklat kekuningan dan warna daging bagian dalam berwarna kuning lebih gelap yang dilingkari warna putih, dapat dilihat pada contoh gambar 2.4 (b). Akar temu mangga merupakan akar serabut yang menempel pada rimpang induk yang keras (Cheppy, 2004).



Gambar 2.3 a. Tanaman temu mangga, b. Rimpang Temu Mangga.

Temu mangga secara morfologi merupakan tanaman yang termasuk dalam golongan tanaman semak yang tingginya hanya berkisar 50-70 cm. Temu mangga dapat tumbuh dengan subur pada ketinggian 250-1000 mdpl. Tanah yang cocok untuk pertumbuhannya yakni tanah yang gembur dengan bahan organik yang tinggi dan sinar matahari yang cukup (Sudewo, 2006). Temu mangga banyak didapati tumbuh secara alami pada lahan berbatu dan berpasir atau tumbuh di bawah pohon-pohon jati. Pemiakan temu mangga dapat dilakukan dengan mudah menggunakan anakan rimpang.

2.4.1 Kandungan Fitokimia Temu Mangga (*Curcuma mangga Val.*)

Temu mangga memiliki kandungan fitokimia yang baik untuk kesehatan sehingga sering digunakan sebagai bahan ramuan jamu tradisional. Temu mangga kaya akan kandungan kimia yang meliputi kurkuminoid, flavonid, tanin, saponin, minyak atsiri, amilum, gula, polifenol dan proteintoksis (Djojoseputro, 2012). Hasil penelitian oleh Mulyani (2007) menunjukkan beberapa senyawa pada temu mangga berperan sebagai antioksidan. Malar, (2011) menyatakan bahwa pada minyak temu mangga memiliki kandungan bioaktif yang menonjol yakni caryophyllene oxide dan caryophyllene. Ahmad (2015) hasil uji antioksidan ekstrak temu mangga menggunakan DPPH memiliki nilai IC50 sebesar 32,482 $\mu\text{g/mL}$ yang berarti bahwa aktivitas antioksidan temu mangga kuat.

2.4.2 Manfaat Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga Val.*)

Temu mangga telah lama dimanfaatkan secara tradisional sebagai bahan obat herbal. Tanaman ini diyakini mampu menyembuhkan berbagai penyakit diantaranya hepatitis, TBC, asma, menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida darah, sinusitis dan dapat pula sebagai antikanker (Cheppy,2004). Kandungan kurkumin pada temu mangga bermanfaat sebagai antiinflamasi dan juga memiliki sifat toksik terhadap berbagai jenis mikroba (Hartati dan Balitro, 2013).

Kandungan senyawa flavonoid temu mangga mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dengan cukup tinggi (Chen *et al.*, 2008). Pada konsentrasi 20% b/v ekstrak temu mangga mampu membentuk zona bening seluas 13,6 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* rata-rata pembentukan zona bening ekstrak temu mangga dengan konsentrasi 20% b/v yakni seluas 5 mm (Wijayanto, 2014).

Temu mangga sering dimanfaatkan sebagai bahan jamu untuk orang setelah melahirkan karena diyakini mampu mengecilkan rahim setelah proses melahirkan. Selain itu tanaman ini memiliki khasiat sebagai obat sakit perut, mengurangi lemak pada perut, gatal-gatal pada area vagina, demam, peambah nafsu makan, masuk angin, gatal-gatal kulit, menguatkan syahwat dan radang saluran pernafasan (Sarjono, 2007). Minyak atsiri dalam temu mangga memiliki khasiat sebagai cholagogum, yakni senyawa perangsang pengeluaran cairan empedu yang berfungsi sebagai penambah nafsu makan, sebagai penenang serta dapat mengembalikan kekejangan otot (Darwi *et al.*, 1991).

2.5 Kandungan Fitokimia Ekstrak Kombinasi Umbi Bawang Putih, Rimpang Jeringau dan Temu Mangga.

Senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanol kombinasi umbi bawang putih, rimpang jeringau dan temu mangga meliputi alkaloid, triterpenoid dan flavonoid (Mughtaromah *et al.*, 2018). Senyawa pada tanaman tersebut telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan menangkal radikal bebas karena adanya reaksi senyawa kimia. Alkaloid dalam ekstrak etanol kombinasi memiliki aktivitas antioksidan dan anti jamur. Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri yang cukup baik, yakni bekerja dengan mengganggu penyusunan

peptidoglikan sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk sempurna (Effendi *et al.*, 2014).

Senyawa triterpenoid pada kombinasi ekstrak etanol bawang putih, rimpang jeringau dan temu mangga memiliki aktivitas antibakteri yakni dengan bereaksi merusak porin yang merupakan pintu masuknya senyawa sehingga bakteri kekurangan nutrisi dan mati. Muchtaromah *et al.*, (2018) menyatakan senyawa triterpenoid memiliki sifat anti jamur, antibakteri, antivirus dan insektisida. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. sedapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak membran sitoplasma sel bakteri (Retnowati *et al.*, 2011). Kombinasi ekstrak *A. sativum* Linn, *C. mangga* Val dan *A. calamus* L terbukti mampu menghambat dan membunuh mikroba *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram (Muchtaromah, 2017).

2.6 Kitosan



Gambar 2.4. Serbuk Kitosan

Kitosan merupakan biomaterial yang sangat menjanjikan untuk dijadikan sebagai pembawa (*carrier*) pada sistem penghantaran obat. Sebagai *carrier* obat, kitosan telah dikembangkan dalam berbagai bentuk sediaan farmasi, seperti tablet, bead, microspher dan nanopartikel. Dari semua bentuk ini, nanopartikel dipandang sebagai *carrier* yang sangat menjanjikan untuk meningkatkan bioavailabilitas dan biomolekul karena memiliki kemampuan difusi dan penetrasi yang lebih baik ke dalam lapisan mukus.

Kitosan merupakan salah satu polimer yang sangat cocok untuk digunakan sebagai penghantar obat karena bersifat biodegradable dan biokompatibel. Kitosan

merupakan hasil ekstraksi limbah kulit hewan golongan crustaceae yang melalui proses deasetilasi dari kitin dengan menghilangkan gugus asetil sehingga molekul dapat larut dalam larutan asam (Mardiyanti, 2012). Kitosan memiliki bobot molekul besar, tidak bersifat racun, larut dalam asam pada suhu kamar, mampu mengikat air dan mampu membentuk penyalut (Alasalvar & Taylor, 2002).

Kitosan mulai banyak digunakan dalam bidang pertanian, industri pangan, kosmetik, farmasi dan kedokteran (Alasalvar & Taylor, 2002). Pada bidang kesehatan dan farmasi, kitosan juga dapat digunakan sebagai diet serat dan penurun kandungan kolesterol dalam darah. Selain itu keberadaan kitosan telah banyak digunakan dalam teknologi penghantar obat. Penggunaan kitosan sebagai penghantar obat dapat meningkatkan efisiensi obat tanpa menimbulkan efek samping pada tubuh (Senel, 2004).

Kitosan telah terbukti mampu bekerja sebagai antimikroba terhadap berbagai organisme target seperti alga, bakteri, ragi dan jamur (Rejane, 2009). Kitosan terbukti mampu bertindak sebagai bakteriosidal dan bakteriostatik. Sedangkan menurut (Takahashi, 2007) aktivitas kitosan terhadap jamur bertindak sebagai fungistatik daripada fungisida. Secara umum kitosan telah dilaporkan sangat efektif dalam menghambat pembentukan spora, perpanjangan tabung kuman dan pertumbuhan radial. Pada penelitian Toan *et al*, (2013) terbukti kitosan mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan *A. niger*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *Salmonella paratyphi*.

2.7 Nanopartikel

Nanoteknologi merupakan salah satu upaya rekayasa teknologi dengan cara menciptakan dan memodifikasi suatu material, struktur fungsional hingga didapati ukuran nanometer dengan adanya peningkatan daya guna dan tingkat efektivitas pada suatu material (Talu'mu, 2011). Dalam bidang farmasi nanopartikel digunakan sebagai agen pembawa obat dengan sistem yang efisien. Nanopartikel dapat dibuat dengan berbagai macam bentuk dan ukuran yang berbeda, namun harus berada dalam rentang dimensi 1-1000 nanometer. Penggunaan nanoteknologi secara luas dapat diaplikasikan pada bidang kesehatan, industri, farmasi, pertanian, energi, teknologi informasi, transportasi dan lain sebagainya (Khan *et al.*, 2017).

Allah subhanahu wa ta'ala berfirman dalam penggalan Surah Saba' ayat 3 berikut:

لَا يَعْزُبُ عَنْهُ مِثْقَالُ ذَرَّةٍ فِي السَّمَاوَاتِ وَلَا فِي الْأَرْضِ وَلَا أَصْغَرُ مِنْ ذَلِكَ وَلَا
أَكْبَرُ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ (٣)

Artinya:Tidak ada tersembunyi daripada-Nya sebesar zarahpun yang ada di langit dan yang ada di bumi dan tidak ada (pula) yang lebih kecil dari itu dan yang lebih besar, melainkan tersebut dalam Kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)".

Ayat diatas secara tidak langsung menjelaskan mengenai keberadaan partikel sebesar zarah. Penggalan ayat " لَا يَعْزُبُ عَنْهُ مِثْقَالُ ذَرَّةٍ " yang artinya "Tidak ada yang tersembunyi daripada-Nya sebesar zarahpun" menurut Imam Fahkrudin Muhammad dalam tafsir al-Kabir (1990) kata "Zarah" bukan merupakan batasan, melainkan sesuatu yang lebih kecil dari Zarah pun tidak luput dari pengetahuan Allah. M. Quraish Shihab dalam tafsir al-Mishbah (2002) menyatakan lafal Zarah dipahami dalam berbagai arti, antara lain semut yang sangat kecil, kepala semut dan debu yang berterbangan yang hanya terlihat di celah matahari. Seiring perkembangan teknologi kata zarah ini digunakan untuk menunjukkan kata atom, walau pada masa turunnya al-Qur'an atom belum dikenal. Dahulu, pengguna bahasa menggunakan kata tersebut untuk menunjuk sesuatu yang terkecil, hal tersebut dapat diartikan pula sebagai partikel yang berukuran nano.

Tujuan penggunaan nanopartikel adalah untuk mengatasi kelarutan zat aktif yang sukar larut, memperbaiki bioavailabilitas senyawa yang buruk, meningkatkan stabilitas zat aktif dari degradasi lingkungan, memodifikasi sistem penghantaran obat sehingga obat dapat bereaksi pada daerah spesifik (Mohanraj dan Chen, 2006). Abdassah (2014) menyatakan nanopartikel mampu memperbaiki absorpsi suatu senyawa makromolekul dan dapat mengurangi iritasi zat aktif pada saluran cerna. Selain itu pemanfaatan nanopartikel terus meningkat karena memiliki toksisitas rendah, proses sintesis yang lebih mudah, bersifat magnetik, serta memiliki luas permukaan partikel yang besar sehingga memiliki kapasitas yang besar untuk mengabsorpsi (Riyanto, 2012).

Nanoteknologi telah banyak diterapkan pada berbagai bidang. Seringkali penerapan nanoteknologi menggunakan bahan kimia berbahaya yang dapat merusak lingkungan. Oleh sebab itu pengembangan nanoteknologi dengan proses yang ramah lingkungan sangat dibutuhkan. Yufakkumar (2015) penelitian dalam bidang biosintesis nanopartikel telah banyak dilakukan dengan menggunakan ekstrak tanaman sebagai metode alternatif ramah lingkungan. Sintesis nanopartikel dengan menggunakan bahan alam memiliki keunggulan diantaranya ialah bahan cukup mudah didapatkan, ramah lingkungan, cepat, ekonomis dan memiliki metode yang sederhana. Selain itu dengan pemanfaatan ekstrak tanaman dalam nanoteknologi, akan meningkatkan aktivitas senyawa yang terkandung dan dapat mengurangi dosis yang diperlukan dalam pengobatan yang menggunakan tanaman tersebut (Yulizar, 2017).

Penerapan teknologi nano telah banyak diujikan dalam berbagai aspek, salah satunya yakni pengujian efektivitas antimikroba. Penelitian Stan *et al*, (2016) pada nanopartikel ekstrak bawang putih dengan partikel berdiameter 200 nm diketahui memiliki luas zona hambat yang sama dengan antibiotik Gentamicin terhadap bakteri *S. aureus* yakni seluas $22 \pm 1,3$ mm, selain itu nanopartikel ekstrak bawang putih juga memiliki luas zona hambat yang lebih besar terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* *B. subtilis* dan *P. aeruginosa* dibandingkan dengan nanopartikel ekstrak kemangi dan rosemary dengan ukuran partikel yang sama. Vimala *et al*, (2011) juga melakukan pembuatan nanopartikel curcumin tersalut kitosan sebagai antimikroba yang mana diperoleh hasil rata-rata ukuran partikel 16.5 nm dan terbukti memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans* dan *Staphylococcus*.

2.8 Sintesis Nanopartikel Menggunakan Metode Gelasi Ionik

Sintesis nanopartikel dalam penelitian ini menggunakan tiga ekstrak yakni bawang putih, temu mangga dan jeringau yang diekstrak menggunakan metode maserasi. Penggunaan metode maserasi dilakukan dikarenakan metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana, yakni dengan cara perendaman simplisia pada pelarut yang bertujuan agar pelarut dapat menembus dinding sel dan memasuki rongga sel yang mengandung senyawa aktif, senyawa aktif tersebut akan

larut pada pelarut. Metode maserasi dilakukan dengan adanya pengadukan, penyaringan dan pengepresan tanpa adanya pemanasan (Astuti, 2012). Proses maserasi harus dilakukan pada tempat yang terhindar dari sinar matahari langsung untuk menghindari proses hidrolisis dan perubahan warna oleh cahaya matahari (Khopkar, 2003).

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96 %. Etanol dikenal sebagai larutan universal yang dapat mengekstraksi senyawa bersifat polar maupun non-polar secara maksimal (Poedjiadi *et al.*, 2006). Etanol terbukti mampu menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya. Selain itu etanol merupakan larutan yang memiliki titik didih yang rendah yakni 79⁰C sehingga pada proses pemekatan tidak akan merusak senyawa aktif yang terkandung (Sudarmadji, 2003).

Ekstrak yang didapatkan pada hasil ekstraksi kemudian disintesis menjadi berukuran nano dengan penambahan kitosan sebagai *delivery system*. Salah satu metode yang paling sering digunakan dalam produksi nanopartikel ekstrak tanaman ialah gelasi ionik. Metode gelasi ionik banyak digunakan karena memiliki proses yang sederhana, tidak membutuhkan pelarut organik dan dapat dikontrol dengan mudah. Proses pembentukan nanopartikel dengan metode gelasi ionik diawali dengan pelarutan kitosan menggunakan asam asetat dengan tujuan untuk mengubah gugus amina (-NH₂) menjadi terionisasi positif (-NH₃⁺) yang akan membantu membentuk reaksi ionik dengan senyawa obat yang bermuatan negatif (Bhumkar dan Varsha, 2006).

Langkah selanjutnya dilakukan pengadukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang, kemudian dicampurkan dengan tripolifosfat yang telah dilarutkan dalam aquades. Tripolifosfat merupakan zat yang berfungsi sebagai pengikat silang (Crosslink) yang baik untuk meningkatkan kekuatan mekanik gel kitosan (Sreekumar *et al.*, 2018). *Sodium tripolifosfat* (STPP) paling banyak digunakan dalam proses croslinker polianion karena memiliki multivalen dan tidak bersifat toksik (Mardliyanti *et al.*, 2012). Proses croslinking bertujuan untuk menghindari penggunaan pelarut organik dan untuk mencegah rusaknya bahan aktif yang akan dienkapsulasi ke dalam nanopartikel kitosan (Fan *et al.*, 2012). Proses

crosslinker dalam metode gelasi ionik dapat terjadi melalui proses pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm.

Proses pengecilan partikel selain menggunakan *magnetic stirrer* juga dapat dibantu dengan homogenisasi atau pengadukan pada kecepatan dan durasi yang lebih besar. Nadia (2014) menyatakan pada umumnya proses homogenisasi dilakukan pada kecepatan 1200 rpm dengan durasi 1 jam. Wijayadi (2018) pada penelitiannya menyatakan, optimasi kecepatan pengadukan menunjukkan bahwa seiring dengan meningkatnya kecepatan pengadukan akan menghasilkan ukuran partikel yang semakin kecil. Peningkatan kecepatan pengadukan, akan meningkatkan intensitas molekul pelarut untuk bersentuhan dengan kitosan sehingga menghasilkan ukuran partikel yang semakin kecil.

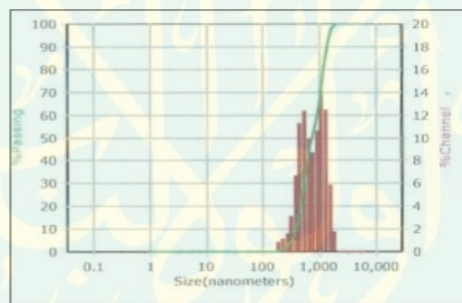
Tahap lanjutan pemecahan partikel yakni menggunakan ultrasonikasi yang memanfaatkan iradiasi gelombang suara transversal dengan frekuensi melebihi batas pendengaran manusia. Salah satu penerapan sonikasi ialah digunakan untuk mempercepat proses pelarutan zat dengan prinsip kerja pemecahan reaksi intermolekuler yang akan membentuk suatu partikel hingga berukuran nano (Wahyono, 2010). Prinsip dalam pembentukan partikel nano ialah memanfaatkan efek fisika dari ultrasonik intensitas tinggi yakni emulsifikasi (Mason, 2002).

Berdasarkan penelitian Rahmi (2013), diperoleh penurunan ukuran partikel sebesar 30 kali dengan menggunakan metode ultrasonikasi. Kurniawan *et al* (2012) menyatakan, semakin lama waktu sonikasi, maka akan menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil. Muchtaromah *et al* (2018) menambahkan, bahwa lama sonikasi terbukti mampu membuat ukuran partikel lebih kecil, namun hal itu berlaku pada lama sonikasi dibawah 90 menit. Berdasarkan hasil karakterisasi nanopartikel menggunakan PSA diperoleh hasil yakni waktu sonikasi 90 menit menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan dengan 60 menit. Namun, waktu sonikasi di atas 90 menit menghasilkan ukuran partikel yang relatif sama bahkan dalam beberapa sampel menghasilkan ukuran partikel yang lebih besar.

2.9 Karakteristik Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum*, *Acorus calamus* dan *Curcuma mangga*

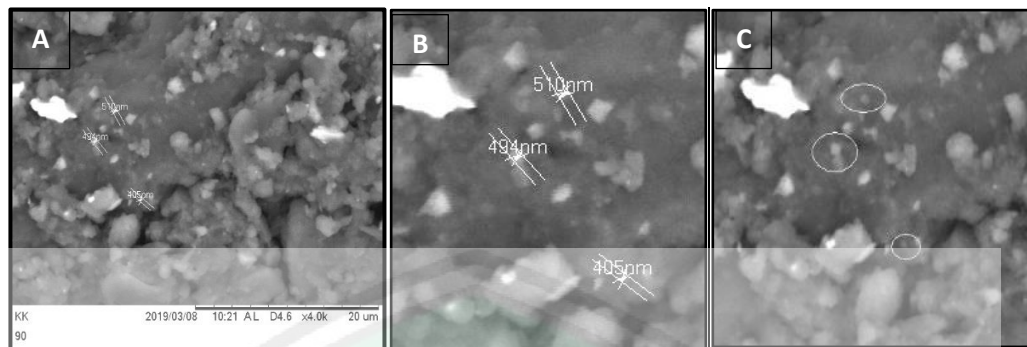
Sampel nanopartikel yang digunakan untuk uji antimikroba adalah nanopartikel kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau, dengan lama sonikasi 90 menit. Analisis yang dilakukan pada sampel nanopartikel meliputi analisis PSA (*Particle Size Analyzer*), SEM (*Scanning Electron Microscopy*), XRD (*X-Ray Diffraction*) dan FTIR (*Fourier-transform infrared spectroscopy*).

Analisis PSA dilakukan untuk menentukan ukuran dan sebaran partikel di setiap sampel. Hasil karakterisasi PSA Muchtaromah *et al*, (2020) ialah diperoleh hasil sebagian besar sampel memiliki distribusi ukuran partikel di kisaran 300-1000 nm (Gambar 2.5). Pada Analisis FTIR pada sampel nanopartikel kombinasi menunjukkan adanya gugus kitosan pada berbagai bilangan gelombang, hal ini menunjukkan adanya peran kitosan sebagai penyalut senyawa ekstrak kombinasi.



Gambar 2.5 Distribusi ukuran nanopartikel kombinasi terlapis kitosan dengan menggunakan PSA, dengan lama sonikasi 90 menit (Muchtaromah *et al*, 2020).

Analisis SEM nanopartikel kombinasi menunjukkan partikel yang berbentuk bulat seperti bola dan mempunyai berbagai ukuran yakni berkisar antara 400-500 nm (Gambar 2.6). Analisis XRD yang dilakukan menunjukkan karakter nanopartikel yang terbentuk adalah amorf. Karakter tersebut menunjukkan bahwa nanopartikel yang terbentuk dengan susunan yang tidak teratur dan kurang padat. Bentuk tersebut akan mengakibatkan mudahnya nanopartikel untuk dimasukkan molekul lain, seperti senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak kombinasi yang turut serta disintesis dalam pembuatan nanopartikel.



Gambar 2.6 Hasil SEM nanopartikel kombinasi dengan perbesaran 4000x. a. Tampak keseluruhan. b. Ukuran nanopartikel. c. Bentuk partikel. (Mughtaromah *et al.*, 2020).

2.10 Mikroba

Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu dipermukaan bumi beranekaragam jenis dengan sifatnya masing-masing, baik yang dapat dilihat secara kasat mata atau tidak. Sesuai dengan firman Allah SWT dalam QS. Al-Furqan (25): 2 yang berbunyi :

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ
وَوَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا (٢)

Artinya: yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi dan Dia tidak mempunyai anak dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.

Menurut Shihab (2002) dalam tafsir Al-Mishbah bahwa Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu yang ada di alam semesta ini dan Allah juga membuat variasi atas ciptaan-Nya. Sedangkan menurut tafsir jalalayn, Allah telah menciptakan kesemuanya itu (dan Allah tetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya) secara tepat dan sempurna. Secara implisit 2 tafsir tersebut menjelaskan bahwasanya Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini dengan sebaik-baiknya ciptaan dengan ukuran dan karakter yang berbeda-beda. Seperti pada penciptaan mikroba *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans* yang memiliki karakteristik serta ukuran yang berbeda.

2.10.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* menurut (Hill, 1981) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

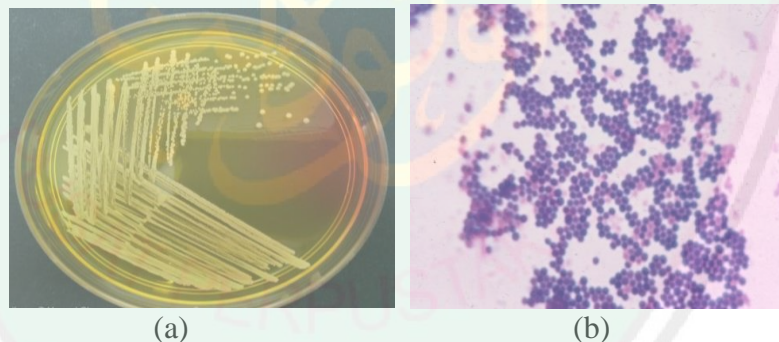
Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu jenis bakteri gram positif yang mana keberadaannya merupakan flora normal pada tubuh manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* diperkirakan mencapai 20-75% ditemukan pada saluran pernapasan atas, kulit, selaput mukosa, muka, tangan, rambut dan vagina (Razzak et al., 2013). Keberadaan bakteri *Staphylococcus aureus* sangat melimpah dimana mana, seperti pada udara, debu, air dan pada makanan (Pratiwi, 2008). Bakteri ini mampu tumbuh dengan mudah pada berbagai media, selain itu bakteri ini tahan terhadap pengeringan dan bersifat toleran terhadap garam konsentrasi tinggi. Keberadaannya merupakan patogen yang potensial pada tubuh manusia (Tatang et al., 2011).

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri gram-positif yang masuk dalam golongan bakteri prokariotik dengan memiliki sel tunggal dan struktur selnya terdiri atas dinding sel, membran sel, ribosom dan bahan genetik (Yuwono, 2005). Bakteri gram positif hanya memiliki membran plasma tunggal dan memiliki dinding sel yang hanya tersusun satu lapis yang tebal berupa peptidoglikan. Selain peptidoglikan dinding sel bakteri gram positif juga mengandung asam tekoat dan kandungan lipid yang sangat rendah (Pelczar, 1988). Saat pewarnaan gram, bakteri ini menunjukkan warna ungu seperti pada Gambar (2.8.b), hal tersebut disebabkan oleh kompleks zat warna kristal violet-yodium yang tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat (Ijong, 2015). Struktur dinding sel bakteri gram positif dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur dinding sel bakteri gram negatif (Kayser, 2005).

Staphylococcus aureus memiliki karakter morfologi berbentuk bulat, pada media biakan berbentuk bulat tunggal, dapat berkoloni atau membentuk seperti rantai dan bergerombol seperti buah anggur (Gambar 2.8). Bakteri *Staphylococcus aureus* tidak membentuk spora, berdiameter sekitar 0,5-1,5 μm , tidak berkapsul, bersifat anaerob fakultatif, tidak dapat bergerak, dinding selnya mengandung peptidoglikan dan asam teikoat (Adila, 2013). Bakteri ini mampu tumbuh pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ dan dapat membentuk pigmen kuning berkilauan pada suhu kamar 20-25 $^{\circ}\text{C}$ (Brooks *et al.*, 2007).



Gambar 2.8 Bakteri *Staphylococcus aureus*. a. Biakan *S. aureus* pada media MSA (Pillai, 2012). b. Bakteri *S. aureus* pewarnaan gram (perbesaran 1000x) (Wistreich, 2003).

Keberadaan *S. aureus* pada vagina dapat menginfeksi saluran reproduksi dengan tingkat prevalensi 29,8% (Mughtaromah *et al.*, 2018). Divya, (2015) menambahkan bahwa keberadaan bakteri *S. aureus* yang berlebih mampu menyebabkan vaginitis. Anas *et al.* (2016) melaporkan bahwa ditemukan mikroorganisme yang mendominasi saluran reproduksi wanita dari pasangan infertil di Mojokerto, Jawa Timur, Indonesia, adalah *S.aureus* (27%) dan *E. coli*

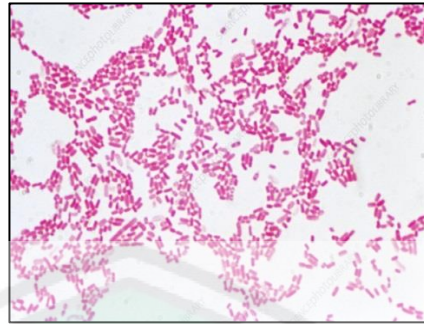
(27%). Selain itu berdasarkan penelitian Sylvia dan Julius (2010) bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan jenis bakteri berbahaya yang paling umum menyebabkan infeksi untuk bayi baru lahir (neonatus). Pada pemeriksaan kolonisasi mikroflora vagina ibu hamil, golongan bakteri gram positif yang paling banyak ditemukan adalah *S. Aureus* yakni sebanyak 12.2%.

2.10.2 Bakteri *Escherichia coli*

Secara taksonomi, klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut (Theodor, 1885) adalah sebagai berikut:

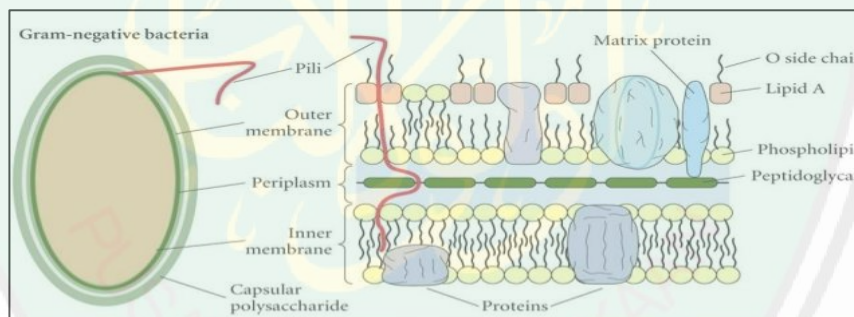
Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu jenis bakteri gram negatif yang menunjukkan warna merah muda saat dilakukan proses pewarnaan (Gambar 2.9). Hal tersebut disebabkan oleh larutnya zat lipid pada saat pencucian dengan alkohol, pori-pori dinding sel melebar yang mengakibatkan permeabilitas dinding sel juga menjadi besar, sehingga zat warna akan hilang saat dilakukan pencucian kembali dan warna yang tersisa adalah zat warna terakhir yang diberikan (Ganiswarna, 1995). Secara morfologi bakteri *Escherichia coli* dicirikan dengan bentuk basil pendek dengan panjang sekitar 2 μm , tidak memiliki kapsul dan spora, dapat bergerak dengan flagela peritrik, bersifat aerob atau anaerob fakultatif.



Gambar 2.9 Bakteri *Escherichia coli* pada pewarnaan gram (Rosalind, 2013).

Bakteri *Escherichia coli* tumbuh dengan membentuk koloni yang bulat, cembung dan halus (Brooks *et al*, 2008). Dapat tumbuh dengan mudah pada media nutrient sederhana pada suhu 37 °C (Pelczar dan Chan, 1988). Bakteri ini memiliki dua lapisan dinding sel yakni membran luar yang tersusun atas fosfolipid, lipopolisakarida dan protein, sedangkan lapisan dalam berupa peptidoglikan yang tipis (Gambar 2.10) (Yanti *et al.*, 2014). Struktur dinding sel bakteri gram negatif tipis antara 10-15 nm, mengandung lemak sekitar 11-22% (Iskandar, 2010).



Gambar 2.10 Struktur dinding sel bakteri gram negatif (Iskandar, 2010).

Bakteri *Escherichia coli* termasuk mikroorganisme flora normal pada tubuh manusia. Keberadaannya memiliki peran penting terutama pada saluran pencernaan yakni membantu dalam sintesis vitamin K, penyerapan zat makanan dalam usus, mengkonversi pigmen-pigmen empedu dan asam-asam empedu. Bakteri *E.coli* dalam usus besar dapat menghasilkan kolisin yang sangat penting untuk melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogenik (Melliawati, 2009). *Escherichia coli* tumbuh secara heterotrof dengan mendapat sumber makanan dari lingkungannya yang berupa zat-zat organik dari sisa organisme lain. Zat organik tersebut akan

diurai menjadi zat anorganik yakni H₂O, CO₂, mineral dan energi. Selain itu bakteri ini berperan dalam pembusukan dan penguraian yang dapat menyediakan nutrisi bagi tanaman (Ganiswarna, 1995 dalam Mulyadi *et al.*, 2017).

Keberadaan bakteri *Escherichia coli* memberikan peranan yang baik apabila jumlahnya tidak melebihi batas wajar dalam tubuh dan masih ada di dalam usus (Jawetz, 1995). Bakteri *Escherichia coli* akan bersifat patogen apabila berpindah dari habitat normalnya. Bakteri ini mudah menyebar, yakni melalui kontak fisik seperti jabat tangan, bersentuhan, melalui tangan atau dapat menyebar pada makanan dan minuman. Dalam jumlah yang berlebih bakteri ini mampu menjadi parasit dalam saluran pencernaan makanan, dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti enteritis, peritonitis, sistitis, peradangan pada saluran kandung kemih dan lain sebagainya (Melliawati, 2009) keberadaan bakteri ini juga banyak ditemui pada saluran kelamin wanita yang dapat mengakibatkan vaginitis (Ravel *et al.*, 2011).

Escherichia coli adalah bakteri flora normal pada saluran pencernaan dan bisa menjadi patogen ketika mencapai jaringan di luar saluran pencernaan. Selain itu *E. coli* dapat ditemukan di vagina dan menjadi salah satu penyebab infeksi saluran reproduksi dengan tingkat prevalensi 13,1% (Kamazeri *et al.*, 2012). Keberadaan *Escherichia coli* pada skret vagina menunjukkan adanya kontaminasi oleh mikroorganisme rektum. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi vaginitis, infeksi ini dapat terjadi akibat pertumbuhan flora normal yang berlebih dengan ditandai kurangnya produksi hidrogen peroksida oleh *Lactobacillus sp* (Razzak *et al.*, 2013).

2.10.3 *Candida albicans*

Klasifikasi jamur *Candida albicans* menurut Tortora (2002) adalah sebagai berikut :

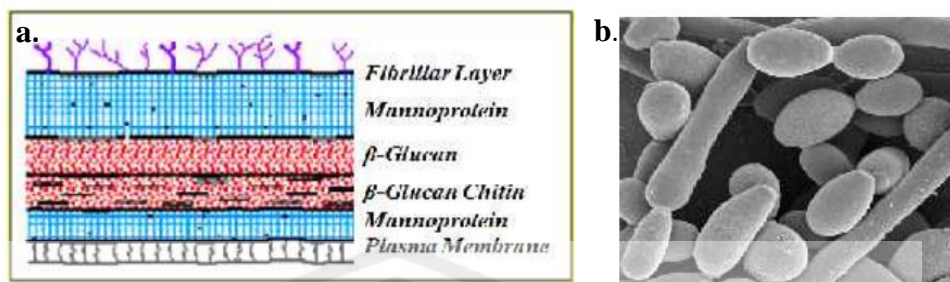
Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycota
Class	: Saccharomyces
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae

Genus : *Candida*

Nama Binomial : *Candida Albicans*

Candida Albicans merupakan jenis jamur yang menjadi flora normal pada tubuh manusia. Secara spesifik jamur ini tumbuh pada saluran pencernaan, saluran genitalia perempuan, selaput mukosa saluran pernafasan, kulit dan dibawah jari-jari kuku tangan dan kaki (Siddik *et al.*, 2016). *Candida Albicans* memiliki karakteristik morfologi seperti bentuknya yang oval bertunas, memiliki diameter 3-6 μm , hidup berkoloni, memiliki warna putih kekuningan dan memiliki aroma seperti ragi (Brooks, 2005). Pada media agar jamur ini tampak berbentuk bulat dengan permukaan cembung, halus dan licin. Pada pewarnaan gram diketahui jamur ini masuk ke dalam gram positif dengan ditandai sel berwarna ungu, berbentuk oval dengan diameter kurang lebih 5 μm (Mutiawati, 2016). *Candida Albicans* memiliki ciri khusus yang tidak ditemui pada spesies *Candida* lainnya yakni adanya spora yang terbentuk karena hifa atau biasa disebut *clamydospora*. *Clamydospora* terdapat pada tempat-tempat tertentu, yang membesar, membulat dan dinding menebal, letaknya berada di terminal, lateral (Jawetz, 2004).

Candida albicans berkembang biak dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu akan terbentuk dengan banyak koloni blastospora yang berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. *Candida albicans* memiliki dinding sel yang terdiri dari lima lapisan yang terdiri atas fibrillar layer, mannoprotein, β glucan, β glucan-chitin, mannoprotein dan membran plasma (Gambar 2.11 a) (Segal dan Bavin, 1994). Dinding sel tersebut memiliki fungsi sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik (Tjampakasari, 2006). Dinding sel jamur memiliki fungsi utama yakni memberi bentuk pada sel, berperan dalam proses penempelan, kolonisasi dan melindungi sel ragi dari lingkungannya.



Gambar 2.11 a. Struktur dinding sel *Candida albicans* b. Bentuk mikroskopis *Candida albicans*.

Candida albicans dapat menimbulkan infeksi akut dan subakut pada seluruh tubuh manusia atau biasa disebut kandidiasis. Penyakit ini mampu menyerang manusia usia balita hingga usia lanjut (Mutiawati, 2016). Penyakit kandidiasis merupakan penyakit yang memiliki gejala bervariasi tergantung pada bagian tubuh yang terinfeksi. Bagian tubuh yang dapat terinfeksi ialah pada bagian lipatan kulit, bagian vagina, bagian dalam rongga mulut dan bagian kuku. Selain itu *Candida albicans* merupakan jamur penyebab vulvovaginalis pada perempuan yang sering terjadi pada wanita hamil, atau penderita diabetes militus (Cassone *et al.*, 2014).

2.11 Tinjauan Antimikroba

Antimikroba merupakan bahan atau senyawa yang dapat membunuh mikroba terutama mikroba yang bersifat patogen. Kriteria antimikroba harus mempunyai sifat toksisitas selektif, yang mana bersifat toksik pada mikroba atau parasit dan tidak berbahaya bagi inang (Waluyo, 2004). Senyawa antimikroba yang biasa digunakan untuk membasmi mikroba yang merugikan manusia adalah antibiotik, antiseptik dan desinfektan (Djide *et al.*, 2008).

Antimikroba memiliki dua jenis cara kerja yang berbeda dalam membasmi mikroba yakni bersifat bakterisidal dan bakteriostatik. Bakterisidal merupakan cara kerja antimikroba dengan cara membunuh sel bakteri namun tidak menyebabkan sel mengalami lisis atau pecah. Djide *et al.* (2008) menyatakan bakteriostatik merupakan cara kerja antimikroba dengan menghambat pertumbuhan mikroba tanpa membunuhnya, antimikroba jenis ini bekerja dengan menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom.

Antimikroba terbagi menjadi dua berdasarkan kisaran kerja atau spektrum yakni spektrum luas dan sempit. Pada spektrum luas, senyawa antimikroba tersebut mampu menghambat atau membunuh berbagai macam mikroba yakni mikroba gram positif maupun mikroba gram negatif. Sedangkan antimikroba yang memiliki spektrum sempit yakni golongan senyawa antimikroba yang hanya membunuh atau menghambat pertumbuhan satu jenis mikroba saja, misalnya hanya bisa menghambat mikroba gram positif saja atau negatif saja (Pratiwi, 2008).

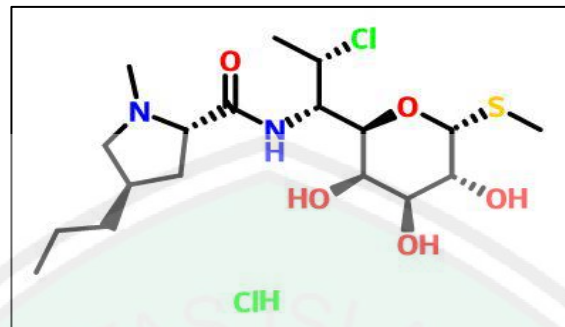
Antimikroba memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda, diantaranya ialah (Waluyo, 2010) :

1. Penghambatan sintesis dinding sel yang menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka akan tekanan osmosis.
2. Denaturasi protein oleh senyawa-senyawa yang terkandung dalam antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein dan berakibat menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom, sehingga hal ini akan menghambat pembentukan protein sebagai sumber energi untuk aktivitas mikroba.
3. Perubahan fungsi membran plasma yang akan berpengaruh terhadap pertumbuhan sel mikroba sehingga pertumbuhan akan terhambat dan mati.
4. Penghambatan sintesis asam nukleat yang berakibat kerusakan total pada sel.

2.12 Klindamisin

Klindamisin merupakan salah satu obat antibakteri semisintetik yang cukup sering digunakan dalam menghambat pertumbuhan atau reproduksi bakteri dengan cara menghambat proses sintesis protein pada sel bakteri. Klindamisin memiliki rumus molekul $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$ dan berat molekul 424.98302. Proses penghambatan oleh klindamisin meliputi pemotongan elongasi rantai peptida, kesalahan dalam membaca kode genetik atau mencegah penempelan rantai oligosakarida pada glikoprotein dan memblok site A pada ribosom (Compound, 2014). Menurut Gilman (2007) cara penekanan sintesis protein pada bakteri oleh

klindamisin yakni dengan cara berikatan secara eksklusif pada subunit 50S ribosom bakteri.

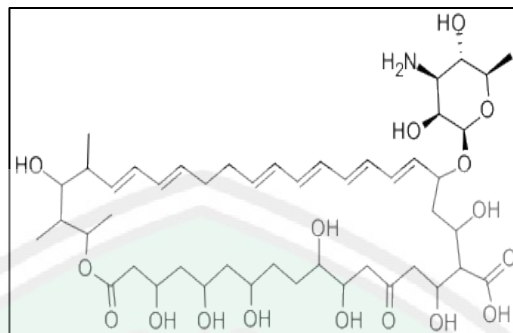


Gambar 2.12 Struktur kimia klindamisin (Frank, 2002).

Klindamisin merupakan antibakteri turunan asam amino trans-L-4-n-propilpiperinat yang berikatan dengan turunan oktosa dan mengandung sulfur. Klindamisin memiliki manfaat sebagai antibiotik oral untuk berbagai penyakit kulit seperti jerawat (Zulfitriah, 2012). Selain itu menurut Buhimschi (2009) klindamisin dapat digunakan dalam mengobati penyakit akibat infeksi dari bakteri aerob gram positif, negatif maupun bakteri anaerob gram positif seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococci*, *Pneumococci*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium species*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Actinomyces species*, *Peptostreptococci*, *Peptococcus*, *Streptococcus* grup B dan *Clostridia*.

Klindamisin merupakan salah satu jenis antibiotik yang digunakan dalam mengobati infeksi serius yang disebabkan oleh bakteri. Klindamisin biasa digunakan dalam mengobati infeksi pada saluran pencernaan, saluran pernafasan, infeksi tulang persendian, infeksi ginekologis, infeksi mulut, infeksi kulit dan jaringan lunak (Erick *et al.*, 2000). Klindamisin dapat bersifat bakteriostatik atau bisa juga bersifat bakterisidal yang mana bergantung pada konsentrasi obat, lokasi infeksi dan bakteri yang menginfeksi (Ebadi, 2006). Penggunaan klindamisin memiliki efek samping diantaranya adalah mual, muntah, trombositopenia, esofagitis, anafilaksis, ruam-ruam, gangguan fungsi hati, diare berat, pseudomembran colitis. Oleh sebab itu klindamisin tidak boleh dikonsumsi oleh pasien yang memiliki riwayat gangguan hepar, ginjal dan colitis (Salvi *et al.*, 2002).

2.13 Nistatin



Gambar 2.13. Struktur Nistatin

Sumber: <https://www.chemicalbook.com/CAS/GIF/1400-61-9.gif>. Diakses pada 7 Desember 2019

Nistatin merupakan salah satu jenis antifungi yang sering digunakan dalam menyembuhkan berbagai macam infeksi yang disebabkan oleh jamur. Nistatin memiliki rumus molekul $C_{18}H_{28}O_2$ dengan bentuk serbuk berwarna kuning kecoklatan, memiliki aroma menyerupai sereal, tidak larut dalam air dan alkohol dan akan stabil pada suspensi dengan pH 6.0-8 (Sweetman, 2009). Nistatin dikategorikan ke dalam antibiotik makrolida karena strukturnya memiliki cincin karbon tak jenuh ganda yang ditutup oleh ester, yang mana gugus hidroksil terikat pada gula.

Mekanisme kerja nistatin dalam menghambat atau membunuh jamur ialah dengan cara mengadakan ikatan yang kompleks dengan ergosterol di membran sitoplasma jamur. Ikatan kompleks tersebut akan menyebabkan perubahan permeabilitas membran sehingga akan terbentuk pori-pori intramembran dan mengakibatkan keluarnya bagian-bagian inti dalam sel jamur seperti ion K, asam karboksilat, asam amino, fosfat, ester fosfa dan mengakibatkan matinya sel jamur (Brescansin *et al.*, 2013).

Nistatin paling efektif digunakan dalam melawan jamur jenis *Candida albicans* karena senyawa ini hanya sensitif terhadap kandidiasis yang digunakan pada kulit, vagina dan bagian oral. Nistatin secara sistematis dapat digunakan sebagai terapi kandidiasis esofagus (Sheppard dan Lampiris, 2015). Penggunaan nistatin secara oral memiliki beberapa efek samping yakni mual, muntah dan diare

dan jarang sekali terjadi infeksi akibat menggunakan obat ini (Sweetman, 2009). Pada penggunaan nistatin dalam dosis yang besar akan menimbulkan masalah pada saluran pencernaan dan sangat jarang timbul ruam-ruam pada tubuh (Soetomo, 2014).

Nistatin terbukti memiliki tingkat toksisitas yang rendah, hal ini dikarenakan nistatin memiliki tingkat absorpsi yang cukup rendah pada saluran pencernaan. Oleh sebab itu nistatin tidak banyak digunakan sebagai antifungi sistemik terkecuali pada kandidiasis esofagus. Selain itu nistatin tidak diinginkan terabsorpsi di saluran cerna, sehingga senyawa akan berada pada mukosa esofagus. Nistatin tidak diabsorpsi secara signifikan terhadap membran mukosa. Efektivitas kerja nistatin terhadap kandidiasis bergantung pada lamanya kontak antara suspensi dan mukosa yang terkena. Oleh sebab itu penggunaan obat ini dianjurkan untuk tidak makan atau minum selama kurang lebih 20 menit. (Sheppard dan Lampiris, 2015).

2.14 Metode Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode yakni bisa dilakukan dengan metode difusi ataupun dilusi (Jawetz *et al.*, 1995)

a. Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan dalam pengujian aktivitas antimikroba. Metode difusi ini biasa disebut dengan metode Kirby-Bauere yang mana menggunakan media agar. Metode difusi terdiri dari tiga cara yakni metode silinder, sumuran dan kertas cakram. Metode difusi memiliki prinsip kerja yakni mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusinya suatu zat yang bersifat sebagai antimikroba didalam media padat melalui pencadangan. Pada metode difusi ini akan terbentuk zona bening atau daerah hambatan yang menunjukkan adanya aktivitas antimikroba dari suatu larutan uji. Luas daerah hambatan yang terbentuk berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri, yang mana semakin kuat daya aktivitas antibakteri maka semakin luas daerah hambatnya (Pratiwi, 2008).

Metode difusi yang paling banyak digunakan ialah metode difusi cakram. Metode ini menggunakan kertas cakram yang telah direndam hingga benar-benar basah secara merata pada larutan uji, kemudian kertas diletakkan pada media agar yang telah diinokulasikan mikroba uji secara aseptis menggunakan pinset steril dan sedikit ditekan pada media. Media yang telah diberi perlakuan kertas cakram kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong (Kusmiyati, 2007). Kriteria kekuatan zona hambat zat antimikroba pada metode difusi kertas cakram dapat dilihat pada tabel 2.1 dibawah ini.

Tabel 2.1 Kriteria kekuatan zona hambat pada metode difusi kertas cakram

Diameter	Kekuatan Zona Hambat
≤ 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
≥20 mm	Sangat Kuat

Sumber : Tang & Zao (2009)

b. Metode Dilusi

Metode untuk pengujian aktivitas antimikroba selain metode difusi juga terdapat metode dilusi. Metode dilusi yakni dengan memasukkan sejumlah zat antimikroba ke dalam media cair atau padat serta dilakukan pengenceran larutan uji hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada masing-masing konsentrasi larutan uji ditambahkan suspensi mikroba dalam media dan diinkubasi (Hugo & Russel, 1987). Metode dilusi digunakan untuk mengetahui seberapa konsentrasi zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroba uji. keuntungan dari metode ini adalah diperolehnya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah konsentrasi zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroba (Jawetz *et al.*, 2007).

Metode dilusi merupakan metode yang digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Metode dilusi ini memiliki prinsip kerja yakni senyawa antibakteri dilakukan seri pengenceran

hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan di inkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, hal tersebut ditandai dengan terjadinya kekeruhan

Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa dilakukan penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Pratiwi, 2008).



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian yakni serbuk simplisia umbi bawang putih, rimpang temu mangga dan rimpang jeringau yang diperoleh dari UPT. Materia Medica Batu. Sebanyak 100g masing-masing simplisia (umbi bawang putih, temu mangga dan jeringau) dimaserasi dengan 500mL etanol 70% dan direndam selama 24 jam. Selanjutnya, larutan disaring menggunakan kertas saring Whatman dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama hingga tiga kali pengulangan. Maserat kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya. Tahap selanjutnya dilakukan pembuatan nanopartikel kombinasi ekstrak tiga jenis tanaman dengan perbandingan (Bawang putih 36%, Temu mangga 36% dan Jeringau 28%) dengan metode gelasi ionik.

Ekstrak dan Nanopartikel yang dihasilkan kemudian dilakukan uji aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Selain itu juga dilakukan uji pada kitosan, nanopartikel kitosan, kontrol positif (Klindamisin dan Nistatin) dan kontrol negatif (DMSO). Metode difusi kertas cakram (Kirby-Bauer) dilakukan dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui luas zona hambat yang dihasilkan oleh sampel uji dengan konsentrasi 2,5%. Sedangkan metode mikrodilusi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada variasi konsentrasi 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625% dan 0,313%. Nilai KHM dan KBM dipertegas dengan metode *pour plate* dengan masing-masing perlakuan 3 ulangan dan dianalisis secara deskriptif kuantitatif.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 – Maret 2019 untuk sintesis dan karakterisasi Nanopartikel. Penelitian bertempat di Laboratorium

Fisiologi Hewan, Laboratorium Genetika Jurusan Biologi fakultas Sains dan Teknologi, Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Ma Chung Malang. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antimikroba pada bulan Oktober 2019 – Juli 2020 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian dalam penelitian ini meliputi:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi bahan uji yang digunakan, untuk difusi kertas cakram menggunakan konsentrasi 2,5%, sedangkan uji KHM dan KBM menggunakan konsentrasi 5%; 2,5%; 12,5%; 6,25% dan 3,13%, serta K+ dan K- dengan konsentrasi 2,5%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini meliputi diameter zona hambat pada difusi kertas cakram (*paper disc*), tingkat kekeruhan pada larutan sebagai hasil dari uji KHM dan jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada media agar sebagai hasil dari KBM.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian adalah variabel yang diperlakukan dalam keadaan yang sama yang meliputi jenis media, suhu, waktu inkubasi dan diameter kertas cakram.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam memproduksi nanopartikel kombinasi ekstrak tanaman meliputi: gelas beker 100 mL (IWAKI), kertas saring (Whatman), corong gelas, oven (Heraeus), pengaduk kaca, *hot plate* (Thermolyne), rotary evaporator (IKA RV 3 V-C), *magnetic stirrer*, aluminium foil, *homogenizer* (IKA T.25 Ultra Turrax), gelas ukur (IWAKI) kapasitas 10 mL dan 100 mL, pipet tetes 5

mL dan 25 mL, ultrasonikator (Cole Pamer CV188), inkubator (Mettler), botol falcon 15 mL, timbangan analitik (Sartorius), sentrifus (Thermo Scientific), mortar dan alu.

Alat-alat yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba meliputi: Autoklaf (ALP KT-30 L), *Laminar Air Flow* (ESCO AHC-4A1), inkubator (Mettler), *vortex* (Thermolyne), *coloni counter* (Stuart SCG Funke Gerber), *stirrer*, cawan petri (Anumbra), tabung reaksi, *microtube*, api bunsen, *paper disk* 6 mm (Oxoid), mikropipet (Bio Rad), jarum ose, rak tabung reaksi, pinset, pipet tetes, kapas, kasa, aluminium foil, kertas label, kantong plastik, karet gelang, penggaris dan jangka sorong.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi: serbuk simplisia umbi bawang putih, rimpang jeringau dan temu mangga, etanol 70%, kitosan, Sodium Tripolifosfat (STTP), asam asetat glasial, aquades, tween 80, media Saboraund Dextrose Agar (HIMEDIA MV 033-500 G), Saboraund Dextrose Broth (HIMEDIA MO 63-500 G), Nutrient Agar (MERCK), Nutrient Broth (Oxoid CM 0001 B), aquades steril, spiritus, Barium Klorida 1,175%, larutan NaCl 0,09%, DMSO, Nystatin, Clindamycin, isolat mikroba vagina *C. Albicans* (CV.1423), *S. aureus* (1117-SV) dan *E. coli* (1906-8V).

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel Tanaman

Sampel tanaman yang digunakan meliputi serbuk simplisia umbi bawang putih, rimpang jeringau dan rimpang temu mangga yang didapatkan dari UPT. *Materia Medica* Batu.

3.5.2 Ekstraksi Dengan Metode Maserasi

Ekstraksi dilakukan dengan beberapa tahapan yakni, pertama ditimbang serbuk simplisia masing-masing tanaman sebanyak 100 gram, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang berbeda, ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 500 mL pada masing-masing tabung, ditutup dengan menggunakan aluminium foil selama 24 jam sambil di shaker pada kecepatan 130 rpm. Hasil

rendaman sampel disaring menggunakan penyaring Buchner, ampas yang tertinggal kemudian dimaserasi kembali menggunakan pelarut yang sama sebanyak 3 kali pengulangan hingga filtratnya berwarna bening. Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak pekat (Yudhistira, 2013).

3.5.3 Pembuatan Nanopartikel Kombinasi Ekstrak Bawang putih, Rimpang Temu mangga Dan Rimpang Jeringau.

Langkah pembuatan nanopartikel kombinasi ekstrak umbi bawang putih, rimpang jeringau dan rimpang temu mangga yakni pertama disiapkan 0,5 ml asam asetat glasial dalam 100 ml aquades, ditambahkan 0,5 gram serbuk kitosan kemudian dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer. Langkah selanjutnya dilarutkan 0,1 gram STPP dalam 20 mL aquades, dicampurkan dengan larutan kitosan-AAG kemudian dihomogenizer dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Langkah selanjutnya ditambahkan ekstrak kombinasi tanaman sebanyak 0,1 gram yang terdiri atas ekstrak bawang putih sebanyak 36 mg, ekstrak jeringau sebanyak 28 mg dan ekstrak temu mangga sebanyak 36 mg, kemudian dihomogenizer dengan kecepatan 1000 rpm selama 30 menit (Mardiyati, 2012; Pakki *et al.*, 2016).

Proses selanjutnya, ditambahkan Tween 80 sebanyak 1 mL dan dihomogenizer dengan kecepatan 10.000 rpm selama 90 menit. Hasil pencampuran larutan kemudian disonikasi dengan frekuensi 20 kHz dan amplitudo 80% selama 90 menit. Hasil sonikasi dimasukkan kedalam tabung falkon 15 mL untuk disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan yang berupa cairan dibuang dan pellet hasil sentrifugasi dimasukkan ke dalam *deep freezer* hingga membeku, pellet dikeluarkan dari tabung falkon dan diinkubasi hingga mengering, kemudian dihaluskan dengan mortar dan alu hingga benar-benar halus (Pakki, *et al.*, 2016 modifikasi).

3.6 Uji Aktivitas Antimikroba

3.6.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat wajib dilakukan sebelum alat digunakan saat penelitian. Sterilisasi dilakukan dengan cara membungkus semua alat-alat gelas dengan kertas, kapas, kasa dan plastik. Selanjutnya alat yang telah dibungkus, dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 5 Psi (*Per Square Inci*) selama 15 menit. Setelah suhu menurun alat diambil dan dikeringkan pada oven. Alat-alat yang tidak tahan dengan suhu tinggi dapat disterilkan dengan menggunakan alkohol 70% (Mulyadi, 2013).

3.6.2 Pembuatan Media

1. Media *Nutrient Agar* (NA)

Serbuk NA sebanyak 14 gram dilarutkan dalam aquades sebanyak 500 mL. Larutan media dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga serbuk NA benar-benar larut yang ditandai dengan tidak adanya serbuk di bagian dasar. Selanjutnya media disterilkan dalam autoklaf (Dewi, 2010).

2. Media *Nurtient Borth* (NB)

Serbuk NB sebanyak 2 gram dilarutkan dalam 150 mL aquades. Langkah selanjutnya, larutan media dipanaskan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga benar-benar larut. Media ditutup dengan kapas, kasa dan aluminium foil kemudian disterilkan dalam autoklaf (Hudaya, 2014).

3. Media *Saboraund Dextrose Agar* (SDA)

Pembuatan media SDA dilakukan dengan cara, serbuk SDA sebanyak 19,5 gram dilarutkan dalam 300 mL aquades, dipanaskan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga serbuk media benar-benar larut. Ditambahkan cairan kloramfenikol sebanyak 120 mg dan NaCl 0,9 % sebanyak 4,8 mL yang bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri yang tidak diinginkan (Warsinah, 2011).

4. Media *Saboraund Dextrose Broth* (SDB)

Serbuk SDB sebanyak 30 gram dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Langkah selanjutnya larutan media dipanaskan dan diaduk menggunakan

magnetic stirrer hingga serbuk benar-benar larut. Media disterilkan dalam autoklaf (Warsinah, 2011).

3.6.3 Peremajaan Mikroba Uji

Peremajaan mikroba uji dilakukan dengan langkah pertama diambil 1 ose mikroba (jamur/bakteri) dari media isolat murni, kemudian diinokulasikan pada media agar miring NA untuk bakteri dan media agar miring SDA untuk jamur. Tabung yang telah berisi mikroba kemudian ditutup kapas steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri dan 48 jam untuk jamur. Hasil peremajaan mikroba diambil 1 ose dan ditanam pada 10 mL media cair NB untuk bakteri dan SDB untuk jamur, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan 48 jam (Nurullaili, 2013; Warsinah, 2011).

3.6.4 Pembuatan Suspensi Mikroba

Suspensi mikroba yang akan digunakan, terlebih dahulu disetarakan kekeruhannya dengan standart 0,5 McFarland yang setara dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/mL). Pembuatan standar McFarland yakni sebanyak 9,95 ml H₂SO₄ 1% ditambahkan 0,05 ml larutan BaCl 1.175% (Sutton,2011). Pembuatan suspensi jamur yang akan digunakan untuk uji ialah sebanyak 5 koloni dari kultur murni dilarutkan ke dalam 5 mL larutan NaCl 0,9 % steril (Pfaller, 1988) dan untuk suspensi bakteri uji, yakni sebanyak 1 ose bakteri dilarutkan dalam 2 mL larutan NaCl 0,9% (Makagansa, 2015). Masing-masing larutan di vortex hingga homogen, kemudian disetarakan jumlah kepadatan selnya dengan larutan standar 0,5 McFarland menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

Standart inokulum jamur yang digunakan dalam uji difusi cakram yakni $1-5 \times 10^6$ CFU/mL dengan nilai absorbansi (OD₆₀₀=0,07) (Pfaller, 1998). Sedangkan standart inokulum bakteri yakni $1-2 \times 10^8$ CFU/mL dengan nilai absorbansi (OD₆₀₀= 0,132) (Berlian, 2016). Pembuatan suspensi jamur yang digunakan untuk uji mikrodilusi cair yakni yeast yang telah disetarakan dengan standart Mcfarland kemudian diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril dengan perbandingan 1:100. Hasil pengenceran kemudian diencerkan kembali menggunakan media cair dengan perbandingan 1:20 yang akan menghasilkan $0,5-2,5 \times 10^3$ sel/mL (Espinel, 2002). Sedangkan pembuatan suspensi bakteri yakni bakteri yang telah setara dengan

standart McFarland kemudian diencerkan menggunakan media cair steril dengan perbandingan 1:150 yang setara dengan 5×10^5 CFU/mL (CLSI, 2012).

3.6.5 Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji yakni pertama dibuat larutan dengan konsentrasi 5% dengan komposisi sebanyak 50 mg ekstrak kombinasi yang dilarutkan pada 1 mL DMSO (dimetil sulfoksida). Dibuat pula larutan uji 300 mg serbuk nanopartikel kombinasi ekstrak yang dilarutkan dengan 1 mL DMSO (Mustika, 2018). Variasi konsentrasi ekstrak dan nanopartikel yang akan digunakan pada uji KHM dan KBM didapatkan dari pengenceran bertingkat menggunakan pelarut DMSO dari larutan berkonsentrasi 5% menjadi 2,5%; 1,25%; 0,625% dan 0,313% (Manik *et al.*, 2015).

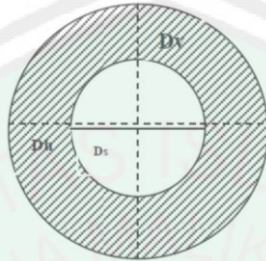
3.6.6 Uji Antimikroba dengan Metode Difusi Cakram

Pengujian aktivitas antimikroba difusi cakram menggunakan teknik swab dalam penanaman mikroba. Pertama di siapkan cawan petri steril kemudian dituang media agar yang masih cair kurang lebih sebanyak 10 mL dengan ketentuan media SDA untuk jamur *C. albicans* sedangkan media NA untuk bakteri *S. aureus* dan *E. coli* kemudian ditunggu hingga memadat. Di tambahkan 100 μ L suspensi mikroba uji (*C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli*) yang telah disesuaikan dengan standar turbiditas 0,5 McFarland pada masing-masing cawan petri, kemudian diratakan menggunakan *cotton swab* steril pada permukaan media.

Kertas cakram dengan diameter 6 mm direndam ke dalam ekstrak nanopartikel kombinasi dan ekstrak kombinasi tanaman dengan konsentrasi 2,5% selama kurang lebih 30 menit (H). Sebagai kontrol positif kertas cakram juga direndam pada antibiotik jenis nistatin dan klindamisin, sedangkan pada kontrol negatif kertas cakram direndam pada pelarut DMSO (Sulistyorini, 2015). Kertas cakram yang telah terendam kemudian diambil menggunakan pinset steril dan diletakkan diatas permukaan media yang telah ditambahkan mikroba dengan sedikit ditekan untuk memastikan kertas cakram menempel pada medium.


Jarak peletakkan kertas cakram harus diatur yakni dengan membagi media menjadi 3 wilayah. Kultur diinkubasi pada suhu 37 °C selama 16 - 20 jam untuk bakteri dan suhu 37°C, selama 24 - 48 jam untuk jamur. Selanjutnya diamati dan

diukur luas zona bening yang terbentuk pada setiap perlakuan (CLSI, 2016). Pengukuran zona bening yang terbentuk dapat dilakukan dengan mengukur diameter vertikal (DV) dan diameter horizontal (DH) dalam satuan milimeter (mm) dengan menggunakan jangka sorong kemudian dibagi dua dan dikurangi luas diameter kertas cakram (DS) (Gambar 3.1) (Pormes *et al.*, 2016).



Gambar 3.1: Pengukuran diameter zona hambat (Pormes *et al.*, 2016).

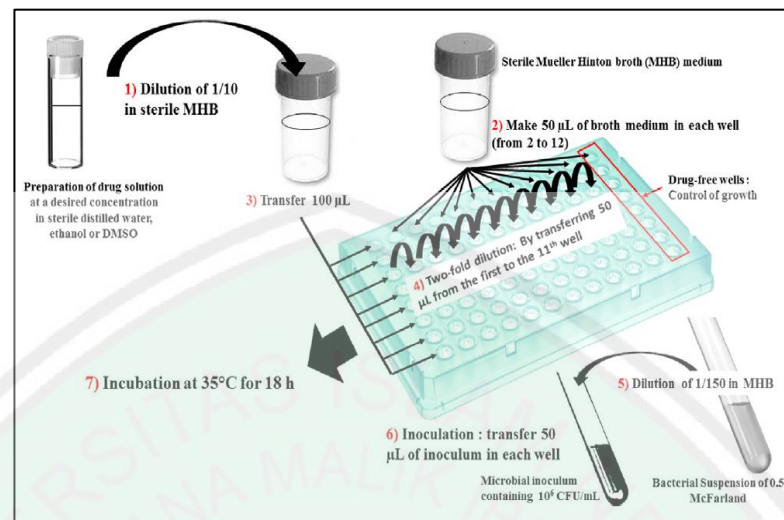
Keterangan :

-  = Zona hambat
- DV = Diameter vertikal
- DH = Diameter horizontal
- DS = Diameter kertas cakram

3.6.7 Uji KHM dan KBM

Uji konsentrasi hambat minimum dilakukan menggunakan metode *micro dilution*. Uji ini menggunakan variasi konsentrasi sampel uji 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625% dan 0,313%. Pengujian terdiri atas 6 perlakuan dan 3 ulangan yakni ekstrak kombinasi, nanopartikel kombinasi, kitosan, nanopartikel kitosan, kontrol positif (klindamisin & Nistatin) dan kontrol negatif (DMSO).

Langkah uji KHM dimulai dengan menyiapkan well-96 steril, serta masing-masing larutan uji konsentrasi 5%. Kemudian diisi kolom well ke-1 dengan larutan uji konsentrasi 5% sebanyak 100 μ L. Kolom ke-2 (2,5%) sampai kolom ke-5 (0,313%) masing-masing diisi 50 μ L media cair steril. Selanjutnya diambil 50 μ L larutan uji dari kolom 1 dimasukkan ke kolom 2 (1,25%) dan dihomogenkan. Diulangi langkah tersebut hingga kolom konsentrasi terakhir (0,313%). Kolom well yang telah terisi larutan kemudian masing-masing ditambah 50 μ L kultur mikroba dari media SDB dan NB (Devi, 2009). Tahapan uji dapat dilihat pada gambar 3.2.



Gambar 3.2. Metode *Broth Microdilution* untuk Uji Antimikroba berdasarkan Ketentuan CLSI (Balouiri, 2016).

Well yang telah diberi perlakuan kemudian di tutup dengan penutup *well* dan dilapisi plastik *wrap*. Selanjutnya well dinkubasi dengan ketentuan *S. aureus* dan *E. coli* pada suhu 35°C selama 16-20 jam, sedangkan masa inkubasi well dengan mikroba uji *C. albicans* yakni 35°C selama 24-48 jam (CLSI, 2013). Inkubasi dilakukan pada Shaker dengan kecepatan 300 rpm dengan penambahan suhu. Nilai KHM dilihat dari kejernihan larutan dalam konsentrasi terendah yang menunjukkan terjadinya penghambatan (Himratul *et al.*, 2011).

Uji KBM dilakukan dengan teknik TPC (*Total Plate Count*). Langkah yang dilakukan yakni dengan mengambil 100 µl suspense dari hasil KHM kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri dan ditambahkan 10 mL media agar cair dan dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi bunuh minimum pada bahan uji. Jumlah koloni yang tumbuh kemudian dihitung menggunakan *colony counter*. Nilai KBM ditentukan oleh nilai konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba pada cawan petri (Dwijayanti, 2012). Biakan yang dihitung adalah koloni yang tumbuh sesuai dengan standart *plat count* yaitu 30-300 koloni per cawan (Khunaifi, 2010).

3.6.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antimikroba nanopartikel kombinasi ekstrak umbi bawang putih, rimpang temu mangga dan jeringau meliputi luas zona hambat, nilai KHM dan KBM. Analisis data uji zona hambat ditentukan dengan pengukuran luas zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram kemudian diuji normalitas dan homogenitas data. Hasil pengukuran diameter tersebut diuji dengan statistika menggunakan SPSS v16. Pengujian ini harus melalui 2 pengujian terlebih dahulu yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas yang digunakan adalah uji *One Sample Kolmogorov Smirnov* kemudian dilakukan uji homogenitas *Homogeneity of variance test*. Data dapat dikatakan normal dan homogen apabila data memiliki nilai *p-value* $>0,05$. Jika data yang diperoleh normal dan homogen maka dilakukan uji parametrik *One-way ANOVA*. Uji parametrik dilakukan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar sampel uji dengan nilai *p-value* $<0,05$. Kemudian analisis data dilanjutkan dengan uji (BNT (Beda Nyata Terkecil) atau Tukey untuk melihat perbedaan yang bermakna antar sampel uji dengan diameter zona hambat.

Analisis data pada uji KHM ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba yang diamati dengan melihat tingkat kekeruhan pada setiap konsentrasi. Kemudian dipertegas dengan cara menginokulasi hasil KHM pada media agar dan dilihat konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Sedangkan nilai KBM ditentukan dengan konsentrasi terkecil yang mampu membunuh mikroba yang dapat diketahui melalui tidak tumbuhnya mikroba yang dikulturkan pada media agar. Data yang diperoleh pada uji KHM dan KBM dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Aktivitas Zona Hambat (Kirby Bauer) Nanopartikel Ekstrak Kombinasi (*Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus*)

Uji difusi cakram dilakukan untuk mengetahui kemampuan daya hambat nanopartikel kombinasi tersalut kitosan pada konsentrasi 2,5%. Pengujian dilakukan dengan beberapa sampel pembandingan yaitu, ekstrak kombinasi, kitosan, nanopartikel kitosan, kontrol positif (klindamisin & nistatin) dan kontrol negatif (DMSO). Berdasarkan percobaan tersebut, diperoleh hasil berupa diameter zona hambat pertumbuhan mikroba melalui pengukuran pada bagian bening yang muncul di sekitar kertas cakram. Ariyani (2018) menyatakan zona bening merupakan suatu daerah di sekitar *paper disk* yang tidak ditumbuhi mikroba. Hasil uji masing-masing sampel sebagai antimikroba menunjukkan besaran zona hambat yang berbeda-beda, dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 4.1. Hasil rata-rata diameter zona hambat beberapa sampel uji

Sampel Uji	Diameter zona hambat (mm) \pm SD & Notasi Uji Lanjut BNT					
	<i>S.aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>C. albicans</i>	
	Rata-rata (mm)	Kategori	Rata-rata (mm)	Kategori	Rata-rata (mm)	Kategori
EK	8,11 \pm 0,40 ^b	Sedang	5,05 \pm 0,70 ^b	Sedang	8,90 \pm 0,75 ^{bc}	Sedang
NEK	25,43 \pm 1,25 ^c	Sangat Kuat	13,77 \pm 0,68 ^d	Kuat	10,32 \pm 1,20 ^d	Kuat
KT	10,32 \pm 1,20 ^b	Kuat	5,96 \pm 0,95 ^b	Sedang	5,63 \pm 1,70 ^b	Sedang
NKT	25,31 \pm 1,70 ^c	Sangat Kuat	10,81 \pm 1 ^c	Kuat	6,82 \pm 1,04 ^{bc}	Sedang
K+	35,86 \pm 2,30 ^d	Sangat kuat	27,21 \pm 1,87 ^e	Sangat kuat	30,71 \pm 2,90 ^e	Sangat kuat
K-	0 ^a	Tidak ada	0 ^a	Tidak ada	0 ^a	Tidak ada

Keterangan - EK = Ekstrak Kombinasi - NEK Nanopartikel Ekstrak Kombinasi
 - KT = Kitosan - NKT Nanopartikel Kitosan
 - K- Kontrol Negatif (DMSO) - K+ Kontrol Positif (Klindamisin untuk bakteri, Nistatin untuk jamur)

Berdasarkan tabel di atas, diketahui bahwa sampel kombinasi (*A.sativum*, *C. mangga* dan *A.calamus*) dalam bentuk ekstrak maupun nanopartikel dengan konsentrasi 2,5% mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*. Aktivitas tersebut ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar kertas cakram yang telah direndam pada sampel uji. Luas zona bening ekstrak kombinasi terhadap *S. aureus* ialah 8,11 mm, terhadap *E.coli* 5,05 mm dan terhadap *C. albicans* sebesar 8,9 mm. Sedangkan pada nanopartikel kombinasi yakni 25,43 mm terhadap *S.aureus*, 13,77 mm terhadap *E.coli* dan 10,32 mm terhadap *C.albicans*. Tampak bahwa sampel uji dalam bentuk nanopartikel memiliki luas zona bening yang lebih besar pada ketiga jenis mikroba jika dibandingkan dengan sampel uji dalam bentuk ekstrak. Rahmawati (2014) menyatakan bahwa semakin luas diameter zona bening yang terbentuk, menunjukkan semakin besar kemampuan larutan uji untuk menghambat pertumbuhan mikroba.

Kitosan digunakan sebagai penyalut pada pembuatan nanopartikel kombinasi, oleh sebab itu dilakukan pula uji daya hambat pada kitosan dan nanopartikel kitosan. Nilai zona hambat yang dihasilkan pada sampel kitosan yakni 10,32 mm terhadap *S. aureus*, 5,96 mm terhadap *E.coli* dan 5,63 mm terhadap *C.albicans*. Nanopartikel kitosan memiliki nilai zona hambat yang lebih besar yakni 25,31 mm pada *S.aureus*, 10,81 mm pada *E.coli* dan 6,8 mm pada *C.albican*. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Magani *et al.* (2019) yang menyebutkan bahwa kitosan memiliki daya hambat terhadap *S.aureus* sebesar 9,17 mm dan terhadap *E.coli* sebesar 11,67 mm, sedangkan pada nanopartikel kitosan memiliki daya hambat yang lebih besar yakni sebesar 20,46 mm terhadap bakteri *S.aureus* dan 20,45 mm terhadap bakteri *E.coli*. Sudjarwo (2019) menambahkan bahwasanya kitosan juga memiliki daya hambat sebesar 12,5 mm terhadap *C. albican*.

Kitosan memiliki sifat antimikroba, karena dapat menghambat bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk, termasuk jamur, bakteri gram-positif dan

bakteri gram negatif (Hafdani, 2011). Kitosan memiliki sifat antimikroba karena adanya muatan positif pada gugus amino yang dapat berikatan dengan muatan negatif membran sel bakteri, sehingga pertumbuhan koloni bakteri akan terganggu (Danggi, 2008). Henriette *et al.* (2010) menyatakan kitosan merupakan salah satu bahan pengawet alami yang biasa digunakan sebagai pelapis pada bahan pangan karena dapat menghalangi oksigen masuk dengan baik sekaligus mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Takahashi (2007) menambahkan bahwasanya kitosan memiliki aktivitas antibakteri kategori bakteristatik (menghambat) pada *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella enteritidis*.

Klindamisin sebagai kontrol positif pada bakteri terbukti memiliki aktivitas daya hambat yang tergolong sangat kuat yakni sebesar 35,86 mm pada *S.aureus* dan 27,21 mm pada *E.coli*. BPOM RI (2015) menyatakan bahwa klindamisin merupakan antibiotik yang telah terstandar secara klinis dan biasa digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri aerob maupun anaerob. Sehingga klindamisin dapat digunakan sebagai tolak ukur dalam menentukan kemampuan bahan uji sebagai antibakteri pada penelitian ini. Sedangkan kontrol positif untuk golongan jamur (*C. albicans*) menggunakan antibiotik jenis nistatin. Berdasarkan hasil pengamatan diketahui aktivitas penghambatan nistatin tergolong sangat kuat yakni dengan konsentrasi 2,5% mampu membentuk zona bening seluas 30,70 mm. Pemilihan nistatin sebagai kontrol positif, karena nistatin merupakan golongan obat utama dalam melawan *Candida sp* (Kurniawati *et al.*, 2016).

DMSO (*Dimethyl sulfoxid*) sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan respon hambatan terhadap mikroba uji. Hal ini diketahui dari tidak terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram (0 mm). Sesuai dengan penelitian Niswah (2014) DMSO sebagai kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Utomo *et al.* (2018) menyatakan bahwa zat yang digunakan sebagai kontrol negatif adalah pelarut yang digunakan sebagai pengencer dari senyawa yang akan diuji. Tujuannya adalah sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan tidak mempengaruhi hasil uji antimikroba dari senyawa yang akan diuji. DMSO merupakan salah satu pelarut organik yang dapat melarutkan berbagai

bahan organik dan polimer secara efektif dan banyak digunakan sebagai pelarut ekstrak pada berbagai penelitian terkait uji antimikrobia ekstrak tanaman (Onyegbule *et al.*, 2011).

Hasil pengukuran diameter tersebut diuji dengan statistika menggunakan SPSS v16. Pengujian ini melalui 2 pengujian terlebih dahulu yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Data rerata nilai diameter uji zona hambat yang diperoleh pada sampel dengan tiga mikroba uji menurut nilai signifikan pada *Kolmogorof-Smirnov test* diperoleh data berdistribusi normal. Sedangkan menurut *Homogeneity of variance test* juga diperoleh rata-rata nilai zona hambat pada masing-masing perlakuan berbeda secara signifikan (Lampiran 4.2). Berdasarkan nilai uji normalitas dan homogenitas yang sudah terpenuhi, maka dilanjutkan dengan analisis One Way Anova.

Analisis One Way Anova dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan diameter zona hambat antar sampel uji. Setelah dianalisis, diameter zona hambat masing-masing sampel uji menunjukkan hasil diameter zona hambat masing-masing sampel terhadap mikroba uji menunjukkan hasil $> F$ tabel yang berarti nilai tersebut $< 3,11$ sehingga H_1 diterima yaitu adanya perbedaan diameter zona hambat antar sampel uji. Langkah selanjutnya untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada masing-masing perlakuan, maka perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau Tukey (hasil uji lanjut BNT pada taraf signifikan 0.05 tercantum di lampiran 4.2).

Berdasarkan hasil uji lanjut BNT atau Tukey, dapat dilihat pada tabel 4.1 bahwa terdapat persamaan pengaruh pembentukan zona hambat pada sampel uji ekstrak kombinasi dan kitosan terhadap mikroba *S. aureus*, *E.coli* dan *C.albicans* karena memiliki nilai notasi yang sama. Namun jika dilihat berdasarkan rerata zona hambat maka diketahui kitosan memiliki nilai rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kombinasi pada perlakuan *S.aureus* dan *C.albicans*. Sedangkan pada sampel nanopartikel kitosan dan nanopartikel kombinasi terbukti memiliki notasi yang sama pada mikroba uji *S. aureus* dan *C.albicans* dan secara keseluruhan memiliki rerata yang lebih tinggi pada nanopartikel kombinasi. Hal tersebut dikarenakan pada nanopartikel kombinasi terdapat kandungan ekstrak dan

kitosan, sehingga memiliki pengaruh pembentukan zona hambat yang lebih tinggi. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwasanya nanopartikel kombinasi berpengaruh dalam pembentukan zona hambat paling tinggi karena adanya kandungan kitosan dan ekstrak.

Pembentukan diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni jenis mikroba uji (strain dan fisiologi bakteri), kecepatan difusi senyawa antimikroba pada medium tumbuh serta ukuran kertas cakram (Prescott, 2005). Candrasari *et al.* (2012) menambahkan bahwa ukuran zona hambat juga dipengaruhi oleh jenis medium kultur, toksisitas bahan uji, interaksi antar komponen medium dan kondisi lingkungan mikro *in vitro*. Dewi (2010) menambahkan pembentukan zona bening pada uji difusi cakram bergantung pada besarnya jumlah senyawa yang tersari pada kertas cakram, sehingga dapat mempengaruhi besar kecilnya diameter hambat yang terbentuk.

Nanopartikel kombinasi antara bawang putih, temu mangga dan jeringau mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas antimikroba. Berdasarkan hasil studi LCMS Muchtaromah *et al.* (2019) menyebutkan bahwa nanopartikel ekstrak kombinasi memiliki 123 jenis senyawa aktif yang diklasifikasikan ke dalam tujuh golongan senyawa yaitu fenolik, flavonoid, sulphur, terpenoid, saponin, curcumin dan steroid. Kandungan tersebut diketahui memiliki aktivitas antimikroba dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Salah satu senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antimikroba yakni tanin. Senyawa tanin bekerja dengan cara menginaktifkan enzim dan fungsi materi genetik sehingga sel mikroba tidak dapat terbentuk dan pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna yang berakibat sel menjadi lisis dan mati (Nuria *et al.*, 2009). Senyawa saponin dapat mengakibatkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel yang mengakibatkan kematian sel (Madduluri *et al.*, 2013). Ngazizah *et al.* (2016) menambahkan bahwasanya saponin sebagai antijamur bekerja dengan merusak protein dan enzim, menurunkan tegangan permukaan dinding sel *C. albicans* sehingga jamur menjadi mati. Alkaloid berperan sebagai antimikroba yakni dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan, sehingga

lapisan dinding sel mikroba tidak terbentuk secara utuh dan mengakibatkan kematian (Darsana *et al.*, 2012).

Aktivitas antimikroba nanopartikel kombinasi terhadap *S.aureus*, *E.coli* dan *C. albicans* lebih kecil jika dibandingkan dengan kontrol positif antibiotik klindamisin dan nistatin. Namun aktivitas antimikroba sudah tergolong kategori kuat dan sangat kuat, sehingga layak digunakan sebagai obat antimikroba. Besarnya zona hambat yang dihasilkan antibiotik dikarenakan kandungan bahan aktif antibiotik yang murni untuk menghambat atau membunuh mikroba (Setiabudy, 2007). Sedangkan pada nanopartikel kombinasi bawang putih, temu manga dan jeringau masih banyak campuran senyawa-senyawa lain sehingga penghambatan terhadap mikroba masih belum bisa seperti antibiotik.

Hasil uji diameter zona hambat pada sampel dalam bentuk nanopartikel menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dalam bentuk ekstrak. Berdasarkan penelitian Rahmat (2016) menunjukkan bahwa ekstrak bonggol nanas dalam ukuran nanopartikel menghasilkan zona hambat yang lebih besar terhadap bakteri *S. aureus* yakni sebesar 22,75 mm, sedangkan dalam bentuk ekstrak memiliki daya hambat sebesar 18 mm. Sivakami *et al.* (2013) menyatakan sampel uji dalam bentuk nanopartikel dapat meningkatkan adsorpsi dan efektivitas obat karena memiliki ukuran yang lebih kecil, sehingga senyawa antibakteri dapat langsung terserap ke dalam sel bakteri.

Aktivitas antimikroba ini dipengaruhi oleh berbagai hal salah satunya yakni karakteristik fisik dari nanopartikel. Berdasarkan hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa nanopartikel kombinasi memiliki distribusi partikel 300-1000 nm. Ukuran nanopartikel pada penelitian ini masih tergolong besar. Gopal (2016) menambahkan bahwa semakin kecil ukuran partikel, maka akan menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih kuat. Seperti pada penelitian Prasetiowati *et al.* (2018) yakni nanopartikel perak ekstrak daun belimbing dengan ukuran partikel 112 nm memiliki diameter zona hambat sebesar 7,0 mm terhadap bakteri *E. coli* dan *B.subtilis*, sedangkan dengan ukuran partikel 169 nm menghasilkan diameter zona hambat sebesar 5,8 mm.

Hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi maupun nanopartikel kombinasi memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji serta jamur uji. Berdasarkan hasil rata-rata diameter zona hambat diketahui bahwa pada ekstrak kombinasi menunjukkan hasil kategori penghambatan sangat kuat pada bakteri Gram positif (*S.aureus*), kategori kuat bakteri Gram negatif (*E.coli*) dan menunjukkan hasil kategori sedang pada jamur *Candida albican*. Sedangkan pada sampel nanopartikel kombinasi terjadi peningkatan aktivitas antimikroba terhadap semua mikroba uji terutama terhadap *E.coli*. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh adanya kandungan kitosan pada nanopartikel kombinasi, dibuktikan dengan pengujian pada nanopartikel kitosan terhadap *E. coli* memiliki aktivitas antimikroba kategori kuat (10,81 mm).

Perbedaan zona hambat tersebut dikarenakan adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua bakteri yang mempengaruhi kerja ekstrak kombinasi dan nanopartikel kombinasi sebagai senyawa antibakteri. Struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana, yaitu berlapis dengan kandungan lipid yang rendah (1-4 %) sehingga memudahkan bahan bioaktif masuk ke dalam sel (Candrasari *et al.*, 2012). Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks, berlapis tiga, yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif antibakteri dan lapisan dalam berupa peptidoglikan dengan kandungan lipid tinggi (Hawley, 2003). Sedangkan *Candida albicans* memiliki struktur dinding sel yang lebih kuat dan lebih kompleks sehingga sulit untuk diuraikan dimana memiliki tingkat ketebalan 100 sampai 400 nm (Waluyo, 2004).

4.2 Uji KHM dan KBM Nanopartikel Kombinasi

Metode KHM dan KBM dilakukan bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terkecil nanopartikel yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroba. Penentuan KHM dilakukan dengan metode dilusi cair dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing media perlakuan (Elfita, 2001). Media perlakuan yang menunjukkan warna bening dianggap sebagai zona hambat, sedangkan media yang tampak keruh menunjukkan masih adanya pertumbuhan mikroba. Tingkat kekeruhan tersebut akan menentukan potensi nanopartikel

kombinasi sebagai antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, didapati hasil pengukuran KHM secara kualitatif sebagai berikut:

Tabel 4.2 Hasil uji konsentrasi hambat minimum secara kualitatif

Perlakuan	Mikroba Uji	Konsentrasi (%)				
		5	2,5	1,25	0,625	0,313
Ekstrak Kombinasi	<i>S. aureus</i>	-	-	+	+++	+++
	<i>E. coli</i>	-	-	+++	+++	+++
	<i>C. albicans</i>	-	-	++	+++	+++
Nanopartikel ekstrak kombinasi	<i>S. aureus</i>	++	++	++	+++	+++
	<i>E. coli</i>	++	++	+++	+++	+++
	<i>C. albicans</i>	++	++	+++	+++	+++
Kitosan	<i>S. aureus</i>	+	+	++	+++	+++
	<i>E. coli</i>	+	++	+++	+++	+++
	<i>C. albicans</i>	+	++	++	+++	+++
Nanopartikel kitosan	<i>S. aureus</i>	++	++	++	+++	+++
	<i>E. coli</i>	++	+++	+++	+++	+++
	<i>C. albicans</i>	+	++	++	+++	+++
K+	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+
	<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-
K-	<i>S. aureus</i>	++	++	++	+++	+++
	<i>E. coli</i>	+++	+++	+++	+++	+++
	<i>C. albicans</i>	++	++	+++	+++	+++

Keterangan: - : jernih
 + : agak keruh
 ++ : keruh
 +++ : sangat keruh
 K+ : Klindamisin (Anti bakteri),
 Nistatin (Anti jamur)
 K- : DMSO

Berdasarkan Tabel di atas, hasil uji KHM dapat dilihat dari tingkat kekeruhan pada masing-masing konsentrasi yang dibandingkan dengan kekeruhan kontrol negatif. Pengamatan secara kualitatif dapat dilihat dari batas antara konsentrasi yang sudah tidak ditumbuhi bakteri (jernih) dan konsentrasi yang masih ditumbuhi bakteri (keruh) (Lampiran 5.5). Berdasarkan tabel, konsentrasi terendah

yang menunjukkan kejernihan larutan uji adalah 2,5% pada sampel ekstrak kombinasi terhadap semua jenis mikroba uji. Sedangkan pada larutan uji lainnya yakni, nanopartikel kombinasi, nanopartikel kitosan, serta kitosan secara visual menunjukkan hasil yang keruh pada semua konsentrasi terhadap ketiga mikroba uji.

Kontrol positif diketahui menunjukkan hasil yang jernih pada konsentrasi paling kecil, yakni 0,313% terhadap *S. aureus* dan *C. albicans*. Sedangkan pada *E. coli* terlihat pada konsentrasi 0,625%. Sedangkan pada kontrol negatif (DMSO) menunjukkan hasil yang keruh pada keseluruhan konsentrasinya. Hal tersebut menandakan bahwa kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri. Rialita *et al.* (2015) dalam penelitiannya menyatakan DMSO 100% sebagai pelarut minyak esensial (kontrol negatif) tidak menunjukkan aktivitas antibakteri.

Hasil pengamatan secara visual yang dilakukan menunjukkan tingkat kekeruhan yang agak sulit dibedakan antar tingkat kekeruhannya, kondisi ini dikarenakan adanya serbuk nanopartikel yang tidak benar-benar larut pada media, selain itu juga dapat diakibatkan oleh adanya pertumbuhan mikroba. Oleh sebab itu, penilaian terhadap tingkat kekeruhan yang dilakukan secara visual kurang akurat sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan melakukan perhitungan jumlah koloni atau *total plate count* (TPC) dengan teknik *pour plate*. Hasil perhitungan akan diperoleh nilai KHM dan KBM. Dewi (2016) menyatakan TPC merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengkonfirmasi daya hambat senyawa aktif terhadap pertumbuhan mikroba berdasarkan banyaknya jumlah koloni yang mampu bertahan untuk tetap tumbuh pada media perlakuan. Semakin rendah konsentrasi sampel uji yang menunjukkan aktivitas hambatan, maka semakin tinggi kemampuan daya hambatnya (Wiegand, 2008). Hasil perhitungan TPC dapat dilihat pada tabel 4.3 berikut:

Tabel 4.3. Hasil perhitungan TPC uji KHM dan KBM (CFU/ml).

Sampel uji	Mikroba Uji	Konsentrasi (%)				
		5	2,5	1,25	0,625	0,313
EK	<i>S.aureus</i>	0	1,4x10 ²	6,1x10 ²	7x10 ³	∞
	<i>E.coli</i>	5,3x10 ²	1,4x10 ³	∞	∞	∞
	<i>C.albicans</i>	1,9x10 ²	1,7x10 ³	2,9x10 ³	∞	∞
NEK	<i>S.aureus</i>	0	0	2,7x10 ²	8,7 x 10 ³	∞
	<i>E.coli</i>	0	2,5x10 ²	3,3x10 ³	∞	∞
	<i>C.albicans</i>	6,04x10 ²	1,4x10 ³	2,4x10 ³	4,1x10 ³	∞
KT	<i>S.aureus</i>	5x10 ¹	∞	∞	∞	∞
	<i>E.coli</i>	9,5x10 ²	2,3x10 ³	∞	∞	∞
	<i>C.albicans</i>	2,4x10 ²	6,7x10 ³	16,6x10 ³	∞	∞
NKT	<i>S.aureus</i>	1,5x10 ²	2,46x10 ³	6,9x10 ⁴	∞	∞
	<i>E.coli</i>	0	0	7,1x10 ²	∞	∞
	<i>C.albicans</i>	6,3x10 ³	20,5x10 ³	52,3x10 ³	∞	∞
K+	<i>S.aureus</i>	0	0	0	0	0,5x10 ²
	<i>E.coli</i>	0	0	0	0	2 x 10 ²
	<i>C.albicans</i>	0	0	0	0	1,8x10 ²
K-	<i>S.aureus</i>	∞	∞	∞	∞	∞
	<i>E.coli</i>	∞	∞	∞	∞	∞
	<i>C.albicans</i>	∞	∞	∞	∞	∞

Keterangan :

- = Positif KBM (Kadar Bunuh Minimum)
- = Positif KHM (Kadar Hambat Minimum)
- ∞ = Mikroba yang tumbuh tak terhingga

Dari hasil penghitungan TPC (*Total Plate Count*) dapat ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) maupun Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari semua sampel uji. KHM adalah konsentrasi terkecil yang dapat menghambat mikroba, ditandai dengan mikroba masih dapat tumbuh dalam jumlah yang kecil pada hasil *pour plate*. Sedangkan KBM adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh mikroba, ditandai dengan mikroba sudah tidak dapat tumbuh pada

hasil *pour plate* yang menandakan mikroba uji mati karena larutan uji pada konsentrasi tersebut (Krishnan, 2015).

Hasil perhitungan TPC menunjukkan bahwa nilai KHM pada ekstrak kombinasi berada di konsentrasi 2,5% dengan total koloni $1,4 \times 10^3$ CFU/ml terhadap *S. aureus* sedangkan terhadap *E. coli* dan *C. Albicans* sampai konsentrasi 5% belum menunjukkan nilai KHM. Pada nanopartikel kombinasi diperoleh nilai KHM pada konsentrasi 1,25% dengan total koloni sebanyak $2,7 \times 10^2$ CFU/ml terhadap bakteri *S.aureus*, 2,5% terhadap *E. coli* dengan total koloni $2,5 \times 10^2$ CFU/ml dan belum menunjukkan nilai penghambatan pada *C. albicans*. Pada sampel kitosan sampai konsentrasi 5% juga belum menunjukkan nilai penghambatan terhadap semua mikroba uji, sedangkan pada nanopartikel kitosan menunjukkan nilai penghambatan pada konsentrasi 1,25% hanya terhadap bakteri *E. coli* dengan total koloni $7,1 \times 10^2$ CFU/ml. Pratiwi (2008) menyatakan bahwa KHM dapat ditetapkan berdasarkan larutan uji yang tampak jernih pada konsentrasi terendah dan tidak terdapat pertumbuhan mikroba. Artinya pada konsentrasi terendah larutan uji mampu menghambat pertumbuhan mikroba, bukan membunuh mikroba. Sehingga dalam hal ini nilai KHM terletak satu tingkat sebelum konsentrasi yang menunjukkan tidak terdapatnya pertumbuhan bakteri.

Hasil KBM diperoleh dengan melihat cawan petri yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba. Berdasarkan hasil uji diketahui bahwa sampel uji dalam bentuk ekstrak memiliki nilai KBM pada konsentrasi 5% terhadap bakteri *S. aureus* saja dan pada sampel nanopartikel kombinasi terjadi peningkatan aktivitas antimikroba yakni memiliki nilai KBM pada konsentrasi 2,5% terhadap *S.aureus* dan terhadap *E. coli* pada konsentrasi 5%. Adanya penghambatan pada *E. coli* dapat diakibatkan karena adanya peran kitosan, yang mana pada hasil uji diketahui bahwa nanopartikel kitosan memiliki nilai KBM pada konsentrasi 5% terhadap bakteri *E.coli*. Seperti halnya pada penelitian Aurely *et al.* (2020) bahwasanya terjadi peningkatan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* pada ekstrak temu kunci setelah penambahan nanokitosan sebanyak 1%.

Berdasarkan hasil di atas menunjukkan bahwa nanopartikel kombinasi mempunyai efektifitas penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan

ekstrak. Adapun pada penelitian ini diketahui bahwa nanopartikel mempunyai ukuran yang sangat kecil sehingga mampu mendispersikan senyawa aktif menuju sel mikroba dengan lebih cepat, begitupula dengan efektifitas senyawanya. Selain itu kondisi ini juga dapat disebabkan karena adanya kandungan kitosan yang memiliki aktivitas antimikroba. Kandungan senyawa aktif dalam nanopartikel kombinasi dan adanya penyalut kitosan kemungkinan bekerja sama secara efektif untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Killay (2013) menyatakan bahwa kitosan memiliki aktivitas bakteriostatik yang mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen.

Kombinasi antara temu mangga, bawang putih dan jeringau diketahui mempunyai kandungan senyawa alkaloid, steroid dan saponin yang tinggi. Senyawa inilah yang diketahui bertindak sebagai antimikroba dalam penelitian ini. Ketiga golongan senyawa tersebut bertindak sebagai antimikroba melalui berbagai mekanisme yang berbeda. Alkaloid menurut Rijayanti (2014) mampu mengganggu susunan peptidoglikan pada sel bakteri yang mengakibatkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga menyebabkan kematian pada bakteri. Kemudian saponin menurut Sapara (2016) dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis pada sel. Adapun steroid menurut Rijayanti (2014) akan berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang menyebabkan integritas lipofilik pada dinding sel menurun sehingga menyebabkan sel menjadi rapuh dan lisis.

Komposisi nanopartikel kombinasi terdiri atas tiga tanaman dan juga kitosan yang masing-masing memiliki aktivitas antimikroba. Pada bawang putih terdapat senyawa Allicin yang merupakan komponen sulfur bioaktif utama yang digunakan oleh bawang putih sebagai perlindungan diri dari serangan bakteri dengan memutus ikatan dinding sel bakteri (Hu *et al.*, 2019). Temu mangga mengandung senyawa kurkumin yang memiliki kemampuan mendenaturasi protein dan merusak membrane sel sehingga sel akan lisis dan metabolisme terganggu (Amalraj, 2017). Sedangkan rimpang jeringau menunjukkan adanya kandungan minyak atsiri pada rimpang dengan asaron sebagai penyusun utamanya. Mekanisme penghambatannya yakni asaron bereaksi dengan dinding sel bakteri yang tersusun

dari lapisan peptidoglikan yang akan menyebabkan meningkatnya tekanan osmotik dalam sel bakteri sehingga menyebabkan terjadinya lisis pada sel bakteri (Rita *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil TPC tampak bahwa nanopartikel kombinasi memiliki aktivitas antimikroba yang lebih baik terhadap bakteri *S. aureus*. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan Dewi (2010) yang menyatakan bahwa *S. aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif yang mempunyai struktur dinding sel yang terdiri atas peptidoglikan dan asam teikoat yang merupakan jenis polimer larut air. Sifat hidrofilik inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel lebih mudah dirusak oleh aktifitas senyawa aktif. Allison & Gilbert (2004) menambahkan bahwasanya *S. aureus* mempunyai struktur dinding sel yang sederhana (kandungan lipid rendah) sedangkan pada bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih rumit (kandungan lipid tinggi dan kompleks) sehingga dinding sel bakteri gram negatif lebih sulit ditembus oleh senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri.

Sedangkan pada sampel uji nanopartikel kitosan diperoleh hasil lebih baik pada bakteri *E.coli*. Hal itu juga telah dibuktikan pada penelitian Tallei (2020), bahwa nanopartikel kitosan bekerja lebih efektif dalam menghambat perumbuhan bakteri *E.coli* dibandingkan dengan *S.aureus*. Salah satu sifat kitosan yaitu mampu mengikat muatan negatif dari senyawa lain dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan muatan positif yang dimiliki (Suherman *et al.*, 2018). Yusman (2006) menambahkan bahwa *E. coli* lebih bermuatan negatif daripada *S. aureus*. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya lipopolisakarida dan peptidoglikan yang mengandung gugus COO⁻ pada *E.coli*, sehingga *E. coli* memiliki muatan yang lebih negatif.

Pengukuran antimikroba dalam penelitian ini diketahui mempunyai aktivitas yang lebih kecil dibandingkan dengan aktivitas antimikroba yang beredar luas di pasaran seperti klindamisin, ketokonazole, chloramphenicol dan nistatin. Savitri (2015) menyatakan bahwa antimikroba yang diperdagangkan dan beredar secara komersial mempunyai batasan standar tersendiri yang direkomendasikan oleh para ahli, yaitu sebesar 30 mg/ml. Jika dibandingkan dengan penelitian ini, kemampuan antimikroba dari nanopartikel kombinasi terletak pada konsentrasi

2,5% atau setara dengan 25 mg/ml. Kondisi ini menunjukkan bahwa sampel tersebut telah memenuhi syarat dalam penggunaannya sebagai antimikroba, karena pada konsentrasi dibawah batasan standar sampel tersebut sudah mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Antimikroba yang baik adalah antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme walaupun dalam konsentrasi yang rendah (Pelzcar, 1988; Octaviani *et al.*, 2019).

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa nanopartikel kombinasi mempunyai potensi sebagai antimikroba yang dibuktikan dengan adanya efek penghambatan dan daya bunuh nanopartikel tersebut terhadap *S.aureus* pada konsentrasi 2,5% dan 1,25%. Sedangkan pada *E. coli* pada konsentrasi 5% dan 2,5% dan pada *C. albicans* perlu dicari konsentrasi nanopartikel kombinasi yang tepat untuk memperoleh hasil penghambatan yang baik. Begitu pula pada hasil uji dengan menggunakan difusi cakram, yang mana pada konsentrasi 2,5% nanopartikel kombinasi menghasilkan zona hambat sangat kuat (25,43 mm) terhadap *S. aureus*, kuat (13,77 mm) terhadap *E. coli* dan sedang (8,9 mm) terhadap *C. albicans*. Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwasanya pengujian dengan metode difusi cakram dan mikrodilusi menunjukkan hasil yang berkesinambungan.

Sebagai hamba yang diberi anugerah akal, maka sudah sepatutnya digunakan untuk berfikir dan berusaha untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Salah satunya yakni obat atas segala penyakit harus terus dicari karena meskipun Allah SWT adalah asy-Syaafi (Yang Maha Penyembuh), namun tidak ada kesembuhan kecuali kesembuhan dari-Nya serta usaha hambanya dalam mencari obat yang paling tepat. Sebagaimana firman-Nya dalam QS. Ar-Ra'd ayat 11:

إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ ۗ

Artinya: “.... Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri....”(QS. Ar-Ra'd: 11).

Ayat di atas bermakna bahwa Allah SWT tidak akan merubah keadaan suatu kaum, selama mereka tidak merubah sebab-sebab nasib dari kaum itu sendiri.

Sehingga sebagai manusia yang beriman harus berusaha dengan penuh keyakinan, karena apa yang Allah SWT berikan sudah lengkap sebagai bukti dan tanda-tanda kekuasaanNya. Oleh karena itu penelitian ini selain sebagai pengetahuan diharapkan menjadi usaha untuk pengembangan bahan obat antimikroba untuk mendukung kesehatan manusia. Selain itu hendaknya manusia tidaklah berputus asa, terus berusaha dan selalu yakin akan adanya kuasa Allah SWT. Sebagaimana firman Allah SWT dalam QS. Adz-Dzariyaat ayat 20:

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ (٢٠)

Artinya: “Dan di bumi itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang yakin”.

Berdasarkan penjelasan ayat tersebut, selain berusaha mencari kesembuhan terhadap suatu penyakit, selayaknya diikuti pula dengan do'a memohon kepada Allah agar segera didatangkan kesembuhan. Karena kesembuhan itu tidak ada seorangpun yang mampu menyegerakan kedatangannya dan tidak ada yang mengetahui waktu kedatangannya. Allah memiliki kuasa yang nyata atas kehidupan bumi maupun langit. Oleh sebab itu kita harus yakin akan kuasa Allah, agar mendapatkan kesembuhan dari segala penyakit.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Daya hambat nanopartikel kombinasi (*A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus*) sebagai antimikroba terhadap *S. aureus* adalah sangat kuat (25.43 ± 1.25), terhadap *E. coli* adalah kuat ($11,2 \pm 0,7$ mm) dan terhadap *C. albicans* adalah kuat ($12,4 \pm 1,2$ mm). Luas zona hambat tertinggi pada bakteri *S. aureus*.
2. Nilai KHM nanopartikel kombinasi pada bakteri *S.aureus* yakni pada konsentrasi 1,25% dengan total koloni yaitu: $2,7 \times 10^2$ CFU/ml dan *E.coli* pada 2,5% dengan total koloni $2,5 \times 10^2$ CFU/ml dan belum menunjukkan nilai KHM pada *C.albicans*. Sedangkan nilai KBM nanopartikel kombinasi berada pada konsentrasi 2,5% terhadap bakteri *S.aureus* dan 5% pada bakteri *E.coli*.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan berdasarkan penelitian ini adalah:

1. Diperlukan uji lanjut yaitu konsentrasi uji KHM-KBM diperbesar lagi di atas konsentrasi 5%.
2. Penelitian selanjutnya dibutuhkan uji aktivitas antimikroba dengan formulasi nanopartikel kombinasi yang lebih beragam dan dibandingkan agar mengetahui kemampuan terbaik dari nanopartikel kombinasi sebagai antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Abirami, M., dan Sudharameshwari, K. 2017. Study on Plant Extract Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles Using Combination of *Cardiospermum halicacabum* and *Butea monosperma* & Screening of Its Antibacterial Activity. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical*. ISSN: 0975-4873.
- Adila, N. A. 2013. Uji Antimikroba *Curcuma* spp. Terhadap Pertanaman *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2 (1).
- Agnihotri, S.A., Nadagounda, N.M., Tejraj M.A. (2004). Recent advances on chitosan based micro and nanoparticles in drug delivery. *Journal of Control Release*. 100: 5-28.
- Ahmad, A., dan Patong, R. 2006. Aktivitas antikanker senyawa bahan alam kurkumin dan analognya pada tingkat molekuler. Makasar: Biochemistry and Biotechnology Laboratory, Departement of Chemistry Hasanuddin University. 1-2.
- Ahmad, M. 2015. Skrining Aktivitas Antioksidan Jamu Subur Kandungan Komersial. *Jurnal El-Hayah*. Vol.5 No.2.
- Alasalvar, C, Taylor T. 2002. *Seafoods Quality, Technology and Nutraceutical Applications*. New York: Springer.
- Alfiah. R., Khotimah. S., dan Masnur .T. 2015. Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikaniamicrantha Kunth*) Terhadap Pertanaman Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Protobiont* Vol. 4 (1) : 52-57.
- Ali, Imam Fahkrudin Muhammad bin Umar bin Husain bin Hasan Ibnu, *Tafsir al-Kabir* Jilid. 9-10, Lebanon: Darul Kitab Ilmiah, 1990.
- Allison, D., & Gilbert, P. 2004. *Pharmaceutical Microbiology* (7th ed). USA: Blackwell Science Massachusetts.
- Anam, C. 2010. "Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) Kajian Dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu". *Jurnal Pertanian MAPETA*. Vol. XII, No. 2, p: 72-144, ISSN : 1411-2817.

- Anas, M., Wiyasa, W. A., Riyanto, S., Sardjono, T. W. Aulani'am, & Prawiro, S. R. (2016). Microorganism spectrum of nonspecific vaginitis in women of infertile couples recognized by s-IgA uterine cervix secretion. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(6), 467-47. doi:org/10.1016/j.apjr.2016.10.007.
- Anisah, K. S., & Yanti A.H. (2014). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escheria coli*. *Jurnal Protobiont*, Vol 3 (3) 1-5.
- Aniputri, F.D., & Ohannes H. S. 2014. The influence of garlic extract (*Allium sativum*) in fiets to the prevention bacteria infection of *Aeromonas hydrophila* and survival rate of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology* Volume 3, Nomor 2
- Amagase, H., Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y 2001. Recent Advances on the Nutritional Effects Associated with the Use of Garlic as a Supplement. *JN*. 1:1118–9.
- Ariyani, H., Nazemi, M. & Kurniati, M. 2018. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Cytrus hystrix DC*) Terhadap Beberapa Bakteri. journal.umbjm.ac.id/index.php/jcps. ISSN : 2598-2095 Vol. 2 No. 1.
- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W., & Sigit, S., 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(20), pp.113-24.
- Balakumbahan, R., Rajamani, K. & Kumanan, K. (2010). *Acorus calamus*: An overview. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(25): 2740-2745.
- Balouiri, M, Moulay Sadiki and Saad Koraichi Ibnsouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6(2016)71–79.
- Banerjee, S. K. and S. K. Maulik. 2002. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutrition Journal* 1 (4): 1–14.
- Barnes, J., Linda, A. & David, P., 2002, *Herbal Medicines*, second edition, 179-185, *Pharmaceutical Press*, London.

- Berlian, Zainal, dkk. 2016. Aktivitas antifungi ekstrak daun kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap fungi *F. oxysporum* schlecht. *Jurnal biota*, 2(1):99-103.
- Bhumkar, D.R., dan Varsha, B.P. (2006). Studies on Effect of pH on Crosslinking of Chitosan With Sodium Tripolyphosphate: A Technical Note. *AAPS PharmSciTech*. 7(2): 1-6.
- Brooks, G.F., J.S. Butel, S.A. Morse. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz*. Alih bahasa: Huriawati H. Edisi ke-23. EGC. Jakarta.
- Buhimschi, CS, Weiner CP. 2009. Medications in pregnancy and lactation: Part 2. Drugs with minimal or unknown human teratogenic effect, 2009/01/22 ed. Vol. 113, 417-32.
- Buzea, C., Blandino, I. I. P, and Robbie, K.. (2007). Nanomaterial and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases*. 2: MR170-MR172.
- Candrasari, M, Anika. Amin Romas, Masna Hasbi, Ovi Rizky Astuti. 2012. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 Dan *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In Vitro. *Biomedika*, Volume 4 Nomor 1.
- Cassone, A. 2014. Vulvovaginal *Candida albicans* infections: pathogenesis, immunity and vaccine prospec. *Int. J. Obs. Gyn*. 122 (6): 785-794. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12994>.
- Cheppy, S. 2004. *Temu Putih Tanaman Obat Anti Kanker*. Cetakan Ke 2. Jakarta : Penebar Swadaya. Halaman 6-8, 12-14.
- CLSI. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.
- CLSI, 2013. M100-S23 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standarts Institute, 33(1).

- Compound P. 2014. Clindamycin. Medical Microbiology. Mc Graw Hill, New York.
- Cutler, R. R, Wilson P. 2004. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *British Journal of Biomedical Science*. 61(2):71–4.
- Danggi, E. 2008. Aplikasi Kitosan dengan Penambahan Esensial Oil Kunyit sebagai Pengawet dan Edible Coating Produk Tahu. Tesis. Sekolah Pascasarjana. IPB. Bogor.
- Darmadi, & Ruslie, R. H. (2012, October). Peranan Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Hipertensi. *Jurnal Cetak Fakultas Kedokteran UWKS*, I.
- Damayanti, Windi., Rochima, Emma., Hasan, Zahidah. 2016. Aplikasi Kitosan Sebagai Antibakteri pada Filet Patin Selama Penyimpanan Suhu Rendah. *JPHPI*. Vol 19 No 3.
- Darsana, I. Besung, I. Mahatmi, H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*.
- Darwis, SN., S. Hiyah dan ABD. Madjo Indo, 1991, Tanaman Obat Famili Zingiberaceae, Pusat Pengembangan Tanaman Industri, Bogor.
- Desai, KGH, Park HJ. 2005. Preparation and characterization of drug-loaded chitosan-tripolyphosphate microspheres by spray drying. *Drug Development Res*. 64:114-128.
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Surakart: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Devi, M. 2009. Dahsyatnya Khasiat Rosella. Cemerlang Publishing. Yogyakarta.
- Devi., dan Sri. Atun. 2017. Pembuatan dan karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) pada Berbagai Varias Komposisi Kitosan. *Jurnal Sains Dasar*. Vol 1 No 35.

- Divya, G. A. (2015). Study to Detect ESBL producing *Escherichia coli* Isolates From Women with Genital Tract Infection. *Indian Journal Of Applied Research*, 5 (8).
- Djide, M. Natsir, dan Sartini. Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi. Makassar: Lembaga Penerbitan UnHas, 2008.
- Djoyoseputro, S. (2012). Hantam Stroke Dan Kanker Dengan Kunyit Putih. Surabaya: Stomata.
- Doughari, JH. 2006. Antimicrobial Activity of *Tamarindus indica* Linn. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 5 (2): 597-603.
- Eick, S., Pfister W., Fiedler D, Straube E. 2000. Clindamycin promotes phagocytosis and intracellular killing of periodontopathogenic bacteria by crevicular granulocytes: an in vitro study. *J. Antimicrob. Chemother*; 46: 583 - 8.
- Ebadi, M. 2006. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. 2nd ed. New York: Taylor & Francis.
- Effendi, Violetta Prisca dan Simon Bambang W. 2014. Distilasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) dengan Kajian Lama Waktu Distilasi dan Rasio Bahan : Pelarut. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.2 No.2.
- Espinel-Ingroff, A. Fothergill, J. Peter, et al., 2002. Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for *Aspergillus spp.* : NCCLS collaborative study, *J.Clin. Microbiol.* 4.3204–3208.
- Fan W., Yan W., Xu Z., Ni H., *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 90 (2012) 21-27.
- Fatima, Y dan Endah. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit dan Biji Buah Pulasan (*Nepeheliium mutabile*). ISBN 978-602-7902-34-3. Prosiding Seminar Nasional IAIN Sultan Thaha Saifuddin, Jambi
- Fujisawa, H, Watanabe K, Suma K, Origuchi K, Matsufuji H, Seki T, Ariga T. 2009. Antibacterial potential of garlic-derived allicin and its

- cancellation by sulfhydryl compounds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(9):1948–55.
- Faqih. 2006. Manfaat Jahe Ini Kata Al-Qur'an. <https://modusaceh.co/news/ini-kata-al-qur-an/index.html>. 29/10/2020.
- Ganiswarna, S. G, 1995 , *Farmakologi dan Terapi* , ed. 4, UI -Fakultas Kedokteran, Jakarta.a Sekolah Farmasi ITB, Edisi X, 877. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Gilman, a.G., 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*, diterjemahkan oleh Tim Alih Bahas Handayani L, 2003. *Tanaman Obat untuk Masa Kehamilan dan Pasca Melahirkan*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Harborne J.B., 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
- Hargono, Djaeni, M., 2010. Pemanfaatan kitosan dari kulit udang sebagai pelarut lemak. Dipresentasikan di Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia, IPB, Bogor.
- Hartati, SY., Balittro. (2013). Khasiat Kunyit Sebagai Obat Tradisional dan Manfaat Lainnya. *Warta Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. Vol.19, No.2, hal:5-7.
- Haryati, SA. 2014. Daya hambat ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* Secara in vitro. Skripsi. Universitas Hasanuddin.
- Hasan, M, N. 2015. Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*L.) dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi secara in Vitro. Tesis. King Mongkut's University of Technology Thonburi. Thailand.
- Hernawan, Udhi Eko Dan Ahmad Dwi Setyawan. 2003. Review: Senyawa Organosulfur Bawang Putih (*Allium Sativum* L.) Dan Aktivitas Biologisnya. *Biofarmasi* 1 (2): 65-76, Issn:1693-2242.
- Hermawan, Anang., Hana Eliyani, dan Wiwiek Tyasningsih. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertanaman *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Disk. Artikel Ilmiah Universitas Airlangga : Surabaya.

- Himratul, Aznita W.H, Mohd-Al-Faisal N. Dan Fathilah A.R., 2011. Determination of the percentage inhibition of diameter growth (PIDG) of Piper betle crude aqueous extract against oral *Candida* species. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(6).
- Hosea, Z. Y. Liamngee K. & Egwu H. R. 2018. Phytochemical Properties and Antimicrobial Activities of Aqueous Extract of *Curcuma longa* (Turmeric) Rhizome Extract. *Asian Journal of Research in Crop Science*. 2 (1): 1-8.
- Hudaya, Adeng, Nani R. & Dede S., dkk. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*. 7 (1): 10-15.
- Hutapea, J. 2000. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jakarta: balitbangkes. Semarang.
- Intan, P.R., Winarno, M.W., dan Prihatini, N. 2016. Efek Ekstrak Campuran Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*) dan Meniran (*Phyllanthus niruri*) pada mencit Swiss Webster yang diinfeksi Plasmodium berghei. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol 6. No 2.
- Jawetz, E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, L. N. Ornston, 1995, Mikrobiologi Kedokteran, ed. 20, University of California, San Francisco.
- Kamazeri, T. S., Samah, O. A., Taher, M., Susanti, D., & Qaralleh, H. (2012). Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asian Pac J Trop Biomed*, 5, 202-209.
- Katzung, B.G., Masters, S.B. & Trevor, A.J., 2012. Basic & Clinical Pharmacology. 12th Ed. United States: McGraw-Hill Companies.
- Kemper, KJ. 2005. Garlic (*Allium sativum*). The Longwood Herbal Task Force and The Center for Holistic Pediatric Education and Research.
- Krishnan, R. Vijay A. & Suresh K. V. 2015. The MIC and MBC of Silver Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* A Facultative Anaerobe. *Journal Nanomedicine & Nanotechnology*. 6 (3).

- Kristanti, Nurvita Wahyu. 2016. Pengaruh Campuran Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) Dan Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Terhadap Daya Hambat Pertanaman *Shigella dysenteriae*. Skripsi. Pendidikan Biologi: Jember.
- Kurniawati, A., Mashartini & Fauzia. I.S. 2016. Perbedaan Khasiat Anti jamur Antra Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan Nistatin Terhadap Pertumbuhan *Candida albican*. Jurnal PDGI Vol.6 N0 3.
- Kusmiyati dan Agustini. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium creuntum*. Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong. Jurnal Biodiversitas. 8(1):48-53.
- Kusumaningtyas, E. 2009. Mekanisme Infeksi *Candida albicans* Pada Permukaan Sel. Jurnal. Lokakarya Nasional Penyakit Zoonis. Balai Penelitian Veteriner. Bogor.
- Lingga, M. E & Rustama. 2005. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus* sp), dan Udang Rebon (*Mysis* dan *Acetes*). Jurnal Biotika5 (2).
- Lulail, J. 2009. Kajian Hasil Riset Potensi Antioksidan di Pusat informasi Teknologi Pertanian Fateta IPB Serta Aplikasi Ekstrak Bawang Putih, Lada dan Daun Sirih Pada Dendeng Sapi. Skripsi Institu Pertanian Bogor : Bogor.
- Madduluri, Suresh. Rao, K.Babu. Sitaram, B. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.:5(4): 679-684.
- Magani, Alce K., Tallei, Trina E., & Kolondam, Beivy J. 2019. Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal BIOS LOGOS. DOI : 10.35799.

- Mahboubi., Farnaz H., Elham M.S., Maryam T., Mohammad K., 2015, Antibacterial Effect of Hydroalcoholic Extract of *Punica granatum* Linn. Petal on Common Oral Microorganisms, *Int. J. of Biomaterials*, 16 : 6.
- Mahendiran, Subash, D. Arumai Selvan, Dilaveez Rehana, Senthil Kumar & A. Kalilur Rahiman. 2017. Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Plant Extracts of Aloe vera and Hibiscus sabdariffa: Phytochemical, Antibacterial, Antioxidant and Anti-proliferative Studies. *BioNanoSci.* (2017) 7:530–545.
- Makagansa, C., Mamuja, C.F., Mandey, L.C. (2015). Kajian Aktivitas AntiBakteri Ekstrak Biji Pangi (*Pangium edule* Reinw) Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus Cereus*, *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *J. Ilmu dan Teknologi Pangan*. 3 (1). 16-25.
- Manik, W.G., Khotimah.S., Fitrianingrum lit., 2015. Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Biji Buah Langsung (*Lansium domesticum* Corr.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.
- Mardliyati, E., S. E. Muttaqien, dan D. R. Setyawati. 2012. Sintesis Nanopartikel Kitosan-Tripolyphosphate dengan Metode Gelasi Ionik: Pengaruh Konsentrasi dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan. Pusat Teknologi Farmasi dan Medika*. 2012: 90-93.
- Martien, R., Adhyatmika., Iramie, D.K.I., Verda, F., dan Dian, P.S. (2012). Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Pengantaran Obat. *Majalah Farmaseutik*. 8(1): 133-144.
- Mason, TJ, Lorimer JP. 2002. *Applied Sonochemistry : The Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing*. Verlag: Wiley-VCH.
- Melliawati, Ruth. 2009. *ESCHERICHIA COLI* dalam kehidupan manusia. *Jurnal BioTrends*. Vol.4.No.1.
- Meredith, TJ. 2008. *The Complete Book of Garlic: A Guide for Gardeners, Grower, and Serious Cooks*. London: Timber Press.

- Moenadjat, Y. 2009. Luka Bakar Masalah dan Tat alaksana. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta.
- Mohanraj, V.J.,and Y. Chen. (2006). Nanoparticles: A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 5(1): 561-573.
- Mohammedaman, M., Teshome T., dan Detamo J. 2019. Antibacterial Activity of Honey against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. International Journal of Microbiology. Volume 2019, Article ID 7686130.
- Mpila, DA, Fatmawali, Wijono WI. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro. Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi. Vol 1.No.1.
- Muchtaromah, B., Ahmad, M., Hasan, M.N, Wahyudi, D. (2018). Antioxidant and antifungal activity of Jeringau Extract of in some organic solvent. Journal Biologi el-hayah. 6(3) pp.70-78.
- Muchtaromah, B., Ahmad, M., Sabdoningrum, E. K., Afifah, Y. M. & Azzahra, V. L. (2017). Phytochemicals, Antioxidant and Antifungal Properties of *Acorus calamus*, *Curcuma mangga*, and *Allium sativum* in The Veterinary Medicine International Conference, KnE Life Sciences, 93–104. doi: 10.18502/cls.v3i6.1119.
- Muchtaromah, B., Wahyudi, D., Ahmad, M., Annisa, R. 2020. Nanoparticle Characterization of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* as a Basic of Nanotechnology on Jamu Subur Kandungan Madura. Journal Pharmacogn. 12(5): 1152-1159.
- Mudjijono. 2015. Kearifan Lokal Orang Madura Tentang Jamu Untuk Kesehatan Ibu Dan Anak. Yogyakarta. KEMENDIKBUD.
- Muhammad, A. B. Tafsir Ibnu Katsir, Jilid 7, 2004, (Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i).
- Muhammad, A. B. Tafsir Ibnu Katsir, Jilid 10, 2004, (Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i).

- Mutiawati, Vivi Keumala. 2016. Pemeriksaan Mikrobiologi Pada *Candida albicans*. *JURNAL KEDOKTERAN SYIAH KUALA* Volume 16 Nomor 1.
- Nay, H. C., 2019. Hubungan Tingkat Pengetahuan Tentang Keputihan Dengan Perilaku Pencegahan Keputihan pada Remaja Putri di SMA Dharma Praja Denpasar. *BMJ*. Vol 6 No 1, 2019: 77-86.
- Ngazizah, F. N. 2016. Potensi Daun Trembilungan (*Begonia hirtella* Link) sebagai Antibakteri dan Antifungi. *Biosfera*. 33 (3).
- Novaryatiin, S., Rezqi H & Rizqi, C. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Umbi Hati Tanah (*Angiotepriis* sp.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Artikel Penelitian, *Jurnal Surya Medika*. 3 (2): 29.
- Nur, M.A., dan H.A. Adijuwana. 1989. Teknik Pemisahan Dalam Analisis Biologi. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat. Bogor : IPB.
- Nuria, M. C., Faizaitun, A.S. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923, *Escherichia Coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella Typhi* Atcc 1408, *Mediagro*;5(2):26–37.
- Octaviani, M., Fadhil, H.I., Yuneistya, E. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrrreaak Etttaanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L) dengan Metode Difusi cakram. *Pharmaceutical Science and Research* Vol 6 No 1.
- Onasis, A. 2001. Pemanfaatan Minyak Jeringau (*Acorus calamus* L.) Untuk Membunuh Kecoak (*Periplaneta americana*). [Skripsi]. Universitas Sumatera utara. Medan.
- Onyegbule, U. N., S. O. Ngbede, E. I. Ngwanguma, and A. Ohaneje. 2012. Evaluation of okra performance to different rates of poultry manure and plant population density. *Continental. J. Agric. Sci.* 6(3): 56-63
- Onmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., Eumkeb, G. 2005. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *ELSEVIER*. 1214-1220 pp
- Pakki, E, Sumarheni, A.F, Ismail, S.S. 2016. Formulasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherin americana* (Aubl) Merr) Dengan Variasi

- Konsentrasi Kitosan-Tripolifosfat (TPP). *J. Trop. Pharm. Chem.* 3 (4): 15-19.
- Patravale, V.B., Date, A.A., Kulkarni, R.M. 2004. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *J Pharm Pharmacol*, 56(7) : 827-40.
- Pfaller, D.J. Sheehan, J. H.Rex, 1998. Determination of fungicidal activities against yeasts and molds : lessons learned from bactericidal testing and the need for standardization ,*Clin .Microbiol .Rev.*17(2004)268–280.
- Poedjiadi, Anna dan Titin Supriyanti. 2006. Dasar-dasar biokimia. Jakarta: UI press
- Poole, CP, Owens FJ. 2003. Introduction to Nanotechnology. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Pormes, O. Damajanty, H.C. 2016. Uji daya hambat ekstrak daun bayam petik (*Amaranthus hybridus* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-GiGi (eG)*, Volume 4 Nomor 2.
- Prasetiowati, A. L., Prasetya, A.T., Wardani, S. 2018. Sintesis Nanopartikel Perak Dengan Bioreduktor Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Sebagai Antibakteri. *Journal Of Chemical Science*. Vol 7 No 2.
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Purwanti. Nera Umilia, dan Ressi Susanti. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antifungal Ekstrak Etanol Rimpang *Acorus sp.* *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*. Volume 2. Nomor 1.
- Quthb, Sayyid. 2002. Tafsir Fi Zhilalil Qur'an. Pen. As'ad Yasin. Jakarta: Gema Insani.
- Purwita, A.A., Novita, K.I., dan Guntur, T. (2013). Penggunaan Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa*) sebagai Pengendali Jamur *Fusarium oxysporum* secara In Vitro. *LenteraBio*. 2(2): 179-183.
- Rahmat, D., Ratih, D., Nurhidayati, L., Bathini, M.A., 2016, Peningkatan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr.) Dengan Pembentukan Nanopartikel, *Jurnal Sainsdan Kesehatan*, Vol. 1, No.5.

- Rahmi, D., & Ratnawati, Emmy. 2013. Peningkatan Stabilitas emulsi Krim Nanopartikel untuk Mempertahankan Kelembapan Kulit. *Jurnal Kimia Kemasan* Vol.35 No.1.
- Raina, V.K., Srivastava, S.K. & Syamasunder, K.V. (2003) Essential oil composition of *Acorus calamus* L. from the lower region of the Himalayas. *Flav Frag J* 18:18-20.
- Raj, L, F.A.A., Jonisha, R., dan Revathi, B (2015). Preparation and Characterization of BSA and Chitosan Nanoparticles For Sustainable Delivery System for Quercetin. *Journal Of Applied Pharmaceutical Science*. Vol 5. No 7.
- Rawat, M., Singh, D., Saraf, S. (2006). Nanocarriers: Promising Vehicle for Bioactive Drugs. *Biol Pharm Bull*. 29(9): 1790-1798.
- Razak, A., Aziz, D., Gusti, R. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* s.) Terhadap Pertanaman Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2(1).
- Rejane, C. Goy, Douglas de Britto, dan Odilio B. G. Assis. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*. Vol.19. No.3.
- Retnowati., Yuliana., Nurhayati, B, Nona, W.P. 2011. Pertanaman Bakteri *Strephylococcus aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*, Vol 6, No 2.
- Rialita, T., Rahayu, W.P., Nuraida, L., Nurtama, B., (2015). Aktivitas Antimikroba Minyak Esensial Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) Dan Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Terhadap Baakteri Patogen Dan Perusak Pangan. *Jurnal AGRITECH*, Vol. 35, No. 1.
- Rismana, E., 2013. Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan-Ekstrak Kulit Buah Manggis. Serpong : Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penetapan Teknologi.
- Rita, W.S., Asih, I.A.R.A, Yuliari, N.M., 2016. Potensi minyak atsiri rimpang jeringau (*Acorus calamus* Linn.) sebagai penghambat Fusarium

- solani, jamur patogen penyebab busuk batang pada buah naga. *Cakra Kimia*, 4(2):120-128.
- Rita, W.S., Wayan, I.S., Utami, P. P.P. 2017. Aaktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* Linn.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Cakra Kimia Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*. Volume 5, Nomor 2.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tanaman Tinggi*. Bandung: ITB.
- Salvi, GE., Mombelli A., Mayfield L., Rutar A, Suvan J, Garrett S, Lang NP. Local antimicrobial therapy after initial periodontal treatment *J Clin Periodontol* 2002; 29: 540-50
- Samin, A.A, Bialangi, N dan Salimi, YK. 2013. Penentuan Kandungan Fenolik Total Dan Aktivitas antioksidan dari Rambut Jagung (*Zea Mays* L.)Yang Tumbuh Di Daerahgorontalo Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo.
- Sastrohamidjojo,H. 2009. *Minyak Atsiri*. Jakarta: Trubus Info.
- Santoso, H.B. 2000. *Bawang Putih*. Edisi ke-12. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Sarjono, R., Mulyani, NS. (2007). Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma mangga vall*). *Jurnal Sains & Matematika*. Vol.15, No.2, hal:89-93.
- Senel S, McClure SJ. 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Adv Drug Deliv Rev*; 56:1467-80.
- Setiabudy, R., Gunawan, S.G. 2007. *Farmakologi dan Terapi* Edisi 5. Jakarta : FKUI.
- Sheppard, D. Dan Lampiris, H.W., 2015. Antifungal Agents. In : *Basic and Clinical Pharmacology*. Ed 13. Editors : Katzung, B.G. and Trevor, A.J. New York : McGraw-Hill Companies, Inc, Chapter 48, p. 825-834.
- Shihab, Muhammad Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*, Jakarta, Lentera Hati.
- Siddik. M. B., Lia Y.B., dan Edyson. 2016. Perbandingan Efektivitas Antifungi Antara Ekstrak Metanol Kulit Batang Kasturi Dengan Ketokonazol 2%

- Terhadap *Candida albicans* In Vitro. *Jurnal Berkala Kedokteran*, Vol.12, No.2.
- Siswandono, S, B. 2000. *Kimia Medisinal*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Sitepu, IS., dkk. (2012). Uji aktivitas Antimikroba Beberapa Ekstrak Bumbu Dapur terhadap Pertumbuhan Jamur *Curvularia lunata* dan *Aspergillus flavus*. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. Vol.1, No.2, hal:107-114.
- Soetomo. 2014. *Kandidiasis Mukosa*. Surabaya : Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo.
- Soraya,C., Santi C., dan Rizki N. 2018. Pengaruh Perasan Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Dalam Menghambat Pertanaman *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro. *Jurnal Cakradonya Dent* 10(1): 1-9.
- Sreekumar, S., Francisco M.G., Bruno M. 2018 Parameters influencing the size of chitosan-TPP and nano-microparticles. *Sci. Rep.* 8: 4695.DOI:10.1038.
- Stan, M., Adriana P., Dana,T., & D. Cristian.Vodnar. 2016. Antibacterial and Antioxidant Activities of ZnO Nanoparticles Synthesized Using Extracts of *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis* and *Ocimum basilicum*. *Journal Springer*. Vol.29 No.3. DOI 10.1007/s40195-016-0380-7.
- Sudarmaji, S. 2003. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudjarwo, G.W., Maghvira S. R. & Mahmiah. 2019. Uji Aktivitas Antijamur Nanopartikel Kitosan terhadap Jamur *Candida albicans* secara In vitro. *Seminar Nasional Kelautan XIV*. B1-50.
- Suhardi. 1992. *Khitin dan Khitosan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM : Yogyakarta.
- Susanti, N. 2016. Uji aktivitas Antimikroba Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Biodjati*. Vol 1 N0 1.

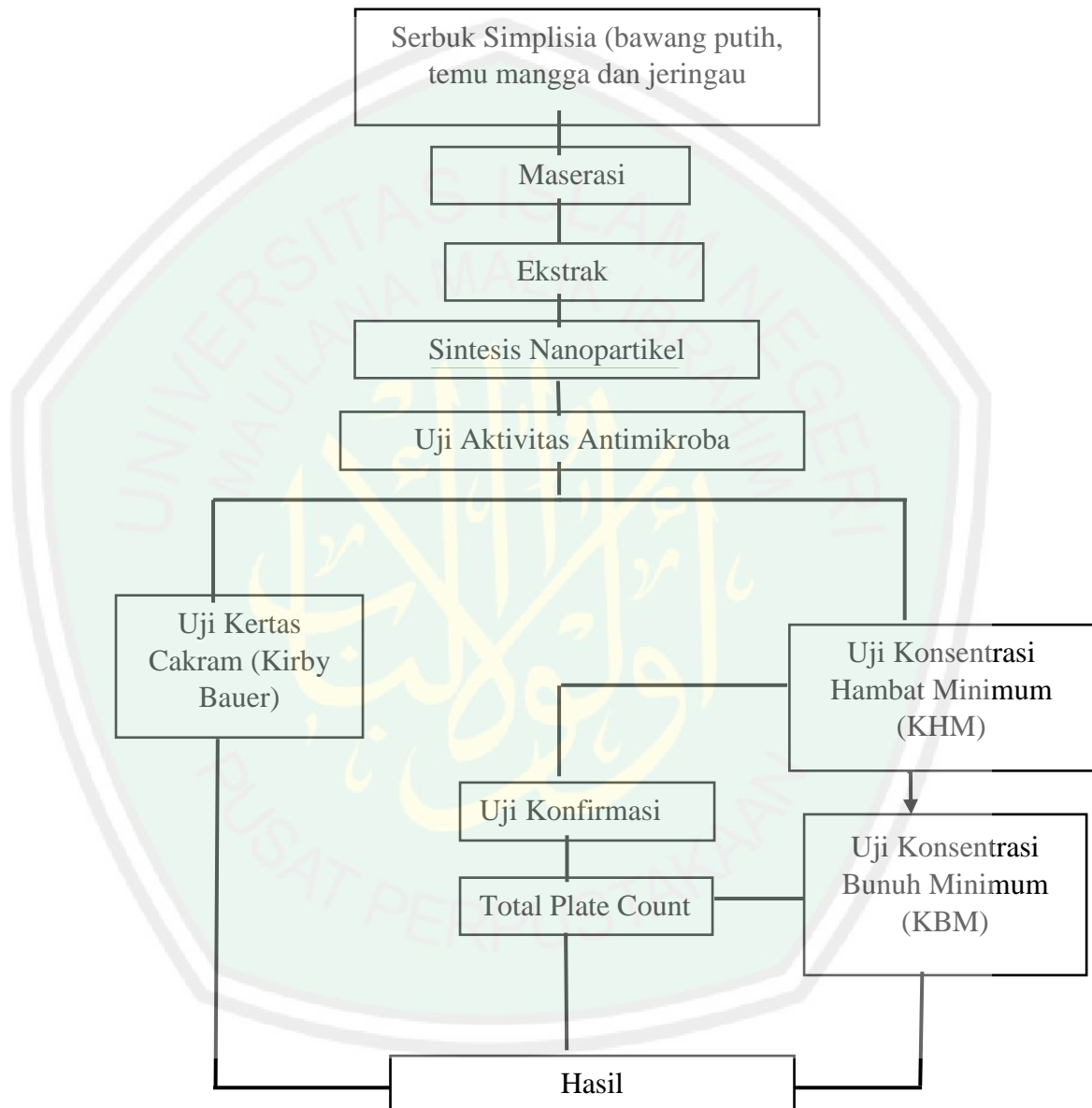
- Susanti, S.F., dan Himmatul Mahmudah. 2017. Effectiveness of Giving Curcuma Mangga Extract Inhibiting Growth of *Staphylococcus aureus*. *Journals of Ners Community*. Volume 08, Nomor 01.
- Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*. 17: 46-49.
- Sweetman, S.C. 2009. Martindale The Complete Drug Reference. Ed.36. USA:Pharmaceutical Press, p.523-551.
- Takahashi T. 2007. Growth inhibitory effect on bacteria of chitosan membranes regulated with deacetylation degree. *Biochem Eng Journal*. 8; 40: 485-91.
- Talu'mu, M.D. 2011 Sintesis Kitosan Nanopartikel dengan Metode Sonokimia, Gelasi Ionotropik, dan Kompleks Polielektrolit. *Jurnal.Prog.Kim.Si*. 1 (2): 130 – 137.
- Tatang, W., Doni, S., dan Qomarudin, H. (2011). Sintesis Nanopartikel Perak dan Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri *E.Coli* dan *S.aureus*. Balai Besar Tekstil : Bandung.
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia* Jan-Mar. Vol 1 Issue 1.
- Thomas, A.N.S. 2000. Tanaman Obat Tradisional I. Edisi ke-13. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Tjay T.H. dan Rahardja K., 2015. Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya, PT Elex MediaKomputindo, Jakarta, pp, 523-531.
- Toan, N.V, Tran Thi Hanh dan Pham Vo Minh. 2013. Thien Antibacterial Activity of Chitosan on Some Common Food Contaminating Microbes. *The Open Biomaterials Journal*, 4, 1-5.
- Tim TPC (Tropical Plant Curriculum) Project. 2012. *Modul Tanaman Obat Herba Berakar Rimpang*. Bogor: Southeast Asian Food And Agricultural Science and Technology (SEAFAS) Center and Bogor Agricultural University.
- Trisia, A., Philyria, R & Toemon, A.N. 2018. Uji Aktivitas Anti bakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) Terhadap

- Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Cakram (Kirbu-Bauer). *Anterior Jurnal* Vol. 17. No 2.
- Utomo, S.B., Fujiyanti, M., Lestari, W.P., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks [4] Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyl trimethylamonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*. Vol 3, No 3.
- Uyo, N., Swasono, R.T dan Kosasih. 2017. Granul Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan Rimpang TemuMangga (*Curcuma mangga* Val.) sebagai Antibakteri. *Jurnal Biologi Papua*. Vol 10, No 1. ISSN: 2086-3314.
- Vimala, K., Mohan, Y.M., Kokkarached,V., Nagireddy, N.R., Sakey.R., Neppalli S.N. 2011. Fabrication of Curcumin Encapsulated Chitosan-PVA Silver Nanocomposite Films for Improved Antimicrobial Activity. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. Vol. 2, No. 55
- Verma, R.S., Padalia, R.C. & Chauhan, A. (2015). Chemical composition of root essential oil of *Acorus calamus* L. 38(2): 121-125.
- Wajdi, S.A. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Campuran Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleivera* Lam.) dan Daun Kersen (*Muntinia calabura* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*. Skripsi. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Wahjuningrum, D., E.H. Solikhah, T. Budiardi, dan M. Setiawati. 2010. Pengendalian Infeksi *Aeromonas hydrophilla* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Dengan Campuran meniran (*Phyllanthus niruri*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) Dalam Pakan. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 9(2), 93 103.
- Wahyono, Dwi. 2010. Ciri Nanopartikel Kitosan dan Pengaruhnya pada Ukuran Partikel dan Efisiensi Penyalutan Ketoprofen. Skripsi. Bogor: ITB.
- Wahyuni, D. T. dan S.B.Widjanarko. 2014. Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid labu kuning dengan metode gelombang ultrasonik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2):390-401.

- Waluyo, L. 2004. Mikrobiologi Umum. UPT Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Warsiati, W.F. 2010. Acuan sediaan Herbal Edisi Pertama. Jakarta. BPOM RI.
- Wasito, H. 2011. Obat Tradisional Kekayaan Indonesia. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Wijayanto, W. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Dan *Escherichia coli* ATCC 11229 Secara In Vitro. SKRIPSI Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Wistreich, G. A. 2003. Microbiology Laboratory Fundamental and Application. Pearson Education. Los Angeles.
- Wulandari, R. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus calamus* Linn.) terhadap pertanaman *Shigella flexneri* secara in vitro. *Jurnal Cerebellum*. Volume 1 Nomor 4.
- Yang, M.H., Yuan S.S, Huang, Y.F, Lin P.C, Lu C.Y, Chung T.W., Tyan Y.C. 2014. A proteomic view to characterize the effect of chitosannanoparticle to hepatic cells. *BioMed Research International* 137(6): 1-9.
- Yanti, E, Juita E, Farida. 2014. Studi tentang bakteri *Escherichia coli* dan logam berat dalam es batu yang digunakan pedagang di sepanjang pantai purus Kota Padang. Program Studi Pendidikan Geografi Sekolah Tinggi Keguruan dan Ilmu Pendidikan : Sumatera Barat.
- Yulianti, E., G.T. Sulungbudi, dan Mujamilah. 2009. "Sintesis dan Proses Enkapsulasi Sistem Ferrofluid $Fe_3O_4/\gamma\text{-}Fe_2O_3$ dengan Polimer Poly (Lactic Acid)." *Jurnal Sains Materi Indonesia* 10 (3): 207–12.
- Yulizar, Y., Hafizah, M.A.E. 2015. The Synthesis of alginate-capped silver nanoparticles under microwave irradiation. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*. 47(1): 31–50.
- Yuwono, Triwibowo. 2005. Biologi Molekuler. Yogyakarta: Penerbit Erlangga.
- Zhang, J., Z. He, H. Tian, G. Zhu and X. Peng. 2007. Identification of aluminium-responsive genes in rice cultivars with deferent aluminium sensitivities. *Exp. Bot.* 58:2268-2278.

Zulfitriah, M. 2012. Hubungan Antara Konsumsi Tempe dengan Angka Kejadian Akne vulgaris pada Dewasa Muda. Naskah Publikasi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang : Semarang.Kurniasari.



LAMPIRAN**Lampiran 1. Rancangan Penelitian**

Lampiran 2. Langkah Kerja Uji Aktivitas Antimikroba

L2.1 Sterilisasi Alat

Alat

- Ditungkup mulut alat-alat gelas menggunakan kapas dan kasa kemudian dilapisi wrap
- Dibungkus cawan petri dengan kertas dan dibungkus dengan plastik
- Dimasukkan ke dalam autoklaf dengan tekanan 15 psi pada suhu 121°C.

Hasil

L2.2 Pembuatan Media

Nutrien Agar (NA)

- Ditimbang 5 gram serbuk NA.
- Dilarutkan dalam 250 mL aquades dalam gelas beker.
- Ditungkup dengan aluminium foil.
- Dipanaskan di atas *hot plate* dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.
- Dimasukkan kedalam tabung Erlenmeyer secara aseptis.
- Ditungkup dengan aluminium foil dan dilapisi plastik wrap.
- Disterilkan dalam autoklaf.

Hasil

Saboraund Dextrose Agar (SDA)

- Ditimbang 16.25 gram serbuk SDA
- Dilarutkan dalam 250 mL aquades dalam gelas beker
- Ditungkup dengan aluminium foil

- Dipanaskan di atas *hot plate* dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* hingga serbuk benar-benar larut.
- Dipindahkan pada tabung Erlenmeyer secara aseptis.
- Ditutup dengan aluminium foil dan dilapisi plastik wrap.
- Disterilkan dalam autoklaf

Hasil

Nutrien Broth(NB)

- Ditimbang serbuk NB sebanyak 2 gram.
- Dilarutkan dalam 250 mL aquades dalam gelas beker.
- Ditutup dengan aluminium foil.
- Dipanaskan di atas hot plate dan dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer.
- Dipindahkan pada tabung Erlenmeyer secara aseptis.
- Ditutup dengan kapas dan dilapisi plastik wrap.
- Disterilkan dalam autoklaf.

Hasil

Saboraund Dextrose Broth (SDB)

- Ditimbang serbuk SDB sebanyak 7.5 gram.
- Dilarutkan dalam 250 mL aquades dalam gelas beker.
- Ditutup dengan aluminium foil.
- Dipanaskan di atas hot plate dan dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer.
- Dioindahkan pada tabung Erlenmeyer secara aseptis.
- Ditutup dengan kapas dan dilapisi plastik wrap.
- Disterilkan dalam autoklaf.

Hasil

L.2.3 Peremajaan Mikroba *S. aureus*, *E. coli* dan *C.albican*

Biakan Murni *S. aureus*, *E. coli* dan *C.albican*

- Diambil 1 ose.
- Digoreskan pada media NA/SDA miring secara aseptik
- Ditutup tabung dengan kapas dan dilapisi plastik wrap
- Diinkubasi pada suhu pertumbuhan masing-masing mikroba

Hasil

L.2.4 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Stok mikroba uji yang telah diremajakan

- Diambil masing-masing 1 ose mikroba uji.
- Dichelupkan pada masing-masing media cair steril (NB untuk bakteri dan SDB untuk jamur).
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- Dihomogenkan dengan vortex.
- Dibuat suspensi mikroba uji dari inokulum media cair dengan perbandingan 1:9 untuk bakteri dan 1:11 untuk jamur dalam NaCl steril 0,9% (mL).
- Divortex kemudian diinkubasi pada 37°C selama 24 jam.
- Disetarakan dengan McFarland 0,5.
- Ditambahkan media cair hingga sesuai standart.

Hasil

L.2.5 Pembuatan Stok Larutan Uji 2,5%

Nanopartikel dan Ekstrak Kombinasi

- Ditimbang 150 mg nanopartikel kombinasi dan 25 mg ekstrak kombinasi.
- Dimasukkan pada botol falcon yang berbeda.
- Ditambahkan masing-masing 1 mL DMSO.
- Dihomogenkan menggunakan vortex.

Hasil

L.2.6 Uji Uji Difusi Cakram (Kirby Bauer)

Stok larutan uji antimikroba 2,5%

- Dicairkan media padat kemudian dituang pada cawan petri steril.
- Ditunggu hingga memadat.
- Direndam kertas cakram steril pada larutan uji antimikroba selama 30 menit-1 jam.
- Diambil 100 mikrolit suspensi mikroba uji dan dituang ke media padat pada cawan petri.
- Diratakan menggunakan *cotton swab*.
- Diletakkan 3 buah kertas cakram dengan jarak yang setara dalam 1 cawan petri.
- Diinkubasi pada 37°C selama 24 jam.
- Diukur zona bening menggunakan jangka sorong.
- Dianalisis.

Hasil

L.2.7 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

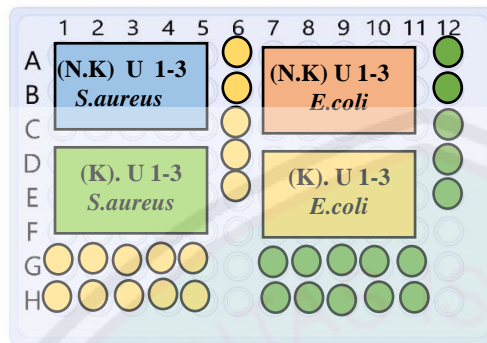
Stok larutan uji antimikroba 25%

- Ditentukan kode perlakuan untuk setiap sumuran pada well-96 steril (huruf A-H (Lihat Skema)).
- Dimasukkan media cair steril pada sumuran 2-6 sebanyak 50 μ L.
- Dimasukkan larutan uji 100% pada sumuran 1 sebanyak 100 μ L
- Dilakukan pengenceran dengan mengambil 50 μ L larutan dari sumuran 1 dan dimasukkan ke sumuran 2.
- Dihomogenkan.
- Diambil 50 μ L dari sumuran 2 dan dimasukkan ke sumuran 3, begitu seterusnya hingga sumuran ke-6.
- Diisi setiap sumuran dengan suspensi mikroba uji sebanyak 50 μ L.
- Dilakukan hal yang sama pada sumuran 7-12.
- Ditutup permukaan well dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.
- Diamati secara langsung dan dicatat pada sumuran ke berapa yang tampak bening.

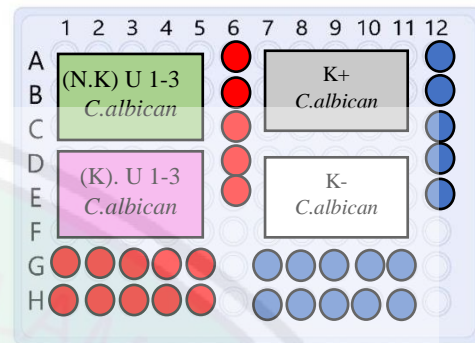
Hasil

Skema perlakuan uji berdasarkan konsentrasi pada well-96

Well 1



Well 2



Keterangan Well 1

- = Nanopartikel kombinasi terhadap *S.aureus* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = Ekstrak kombinasi terhadap *S.aureus* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = Nanopartikel kombinasi terhadap *E.coli* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.7 = 5%; 8 = 2.5%; 9 = 1.25%; 10 = 0.625%; 11 = 0.313%).
- = Ekstrak kombinasi terhadap *E.coli* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.7 = 5%; 8 = 2.5%; 9 = 1.25%; 10 = 0.625%; 11 = 0.313%).
- = Nanopartikel kitosan terhadap *S.aureus* (G:u1; H:u2; 6:u3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = Nanopartikel kitosan terhadap *E.coli* ((G:u1; H:u2; 12:u3).
Konsentrasi (No.7 = 5%; 8 = 2.5%; 9 = 1.25%; 10 = 0.625%; 11 = 0.313%).

Keterangan Well 2

- = Nanopartikel kombinasi terhadap *C.albican* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = Ekstrak kombinasi terhadap *C.albican* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = K+ Nistatin terhadap *C. albican* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = K- Nistatin terhadap *C. albican* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = Nanopartikel kitosan terhadap *C.albican* (G:u1; H:u2; 6:u3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = Kitosan terhadap *C.albican* (G:u1; H:u2; 12:u3).
Konsentrasi (No.7 = 5%; 8 = 2.5%; 9 = 1.25%; 10 = 0.625%; 11 = 0.313%)

Well 3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
A	K+ <i>S.aureus</i> (U1-3)												K+ <i>E.coli</i> (U1-3)	
B														
C														
D	K- <i>S.aureus</i> (U1-3)												K- <i>E.coli</i> (U1-3)	
E														
F														
G	K- <i>S.aureus</i> (U1-3)												K- <i>E.coli</i> (U1-3)	
H														

Keterangan Well 3

- = K+ Klindamisin terhadap *S.aureus* (ulangan 1-3).
 Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = K- Klindamisin terhadap *S.aureus* (ulangan 1-3).
 Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = K+ Klindamisin terhadap *E.coli* (ulangan 1-3).
 Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
- = K- Klindamisin terhadap *E.coli* (ulangan 1-3).
 Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).

Lampiran 3. Rumus Perhitungan

L.3.1 Rumus Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat = Diameter zona bening – Diameter kertas cakram

L.3.2 Rumus Standar Deviasi

Rumus Varian

$$s^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2$$

Rumus Standar Deviasi

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

Keterangan :

S^2 : ragam atau varian sampel

s : standar deviasi

N : jumlah data

i : nomor data (i : 1,2,3..N)

x_i : data ke-i (i : 1,2,3..N)

\bar{x} : rata-rata sampel

L.3.3 Rumus Total Plate Count

Jumlah koloni = Jumlah koloni per cawan x 1/Faktor pengencer

Faktor Pengencer (FP) = Pengenceran x Jumlah yang diencerkan

$$TPC = \frac{\text{jumlah koloni}}{2} \times \text{pengenceran ke berapa}$$

Lampiran 4. Data Hasil Uji Aktivitas Antimikroba

L.4.1 Tabel Diameter Zona Hambat

	Bahan Uji	Mikroba uji	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)	Kategori Daya Hambat
			U1	U2	U3		
1.	Nanopartikel Kombinasi	<i>S. aureus</i>	25,36	24,22	26,72	25,43	Sangat kuat
		<i>E. coli</i>	14,54	13,56	13,21	13,77	Kuat
		<i>C. albican</i>	11,25	8,92	10,8	10,32	Kuat
2.	Ekstrak Kombinasi	<i>S. aureus</i>	7,78	8,0	8,57	8,11	Sedang
		<i>E. coli</i>	5,58	5,38	4,2	5,05	Sedang
		<i>C. albican</i>	9,42	8,11	9,4	8,97	Sedang
3.	Nanopartikel Kitosan	<i>S. aureus</i>	27,54	24,35	24,64	25,31	Sangat Kuat
		<i>E. coli</i>	11,38	9,65	11,40	10,81	Kuat
		<i>C. albican</i>	8,0	6,3	6,1	6,8	Sedang
4.	Kitosan	<i>S. aureus</i>	11,25	8,92	10,8	10,32	Kuat
		<i>E. coli</i>	6,98	5,10	5,79	5,96	Sedang
		<i>C. albican</i>	4,94	6,22	5,73	5,63	Sedang
5.	Kontrol Positif (Klindamisin/ Nistatin)	<i>S. aureus</i>	30,0	31,0	33,0	31,3	Sangat kuat
		<i>E. coli</i>	28,37	25,05	28,21	27,21	Sangat kuat
		<i>C. albican</i>	29,77	28,29	34,06	30,70	Sangat kuat
6.	Kontrol Negatif (DMSO)	<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	Tidak ada
		<i>E. coli</i>	0	0	0	0	Tidak ada
		<i>C. albican</i>	0	0	0	0	Tidak ada

L.4.2 Analisis Data Pengukuran Diameter Zona Hambat Aktivitas Antibakteri

1. Uji Normalitas (*S.aureus*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter Zona Hambat
N		18
Normal Parameters ^a	Mean	16.7861
	Std. Deviation	11.63418
Most Extreme Differences	Absolute	.239
	Positive	.183
	Negative	-.239
Kolmogorov-Smirnov Z		1.012
Asymp. Sig. (2-tailed)		.257
a. Test distribution is Normal.		

2. Uji Homogenitas

Descriptives

Diameter Zona Hambat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Nanopartikel Kombinasi	3		
Ekstrak Kombinasi	3	8.1167	.40772	.23540	7.1038	9.1295	7.78	8.57
Nanopartikel Kitosan	3	25.3100	1.76400	1.01845	21.1280	29.8920	24.35	27.54
Kitosan	3	10.3233	1.23597	.71359	7.2530	13.3937	8.92	11.25
K+	3	31.3333	1.52753	.88192	27.5388	35.1279	30.00	33.00
K-	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	18	16.7861	11.63418	2.74220	11.0006	22.5717	.00	33.00

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.021	5	12	.054

3. Uji One Way

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2283.608	5	456.722	314.784	.000
Within Groups	17.411	12	1.451		
Total	2301.019	17			

4. Uji Lanjut Tukey

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD

Bahan Uji	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K-	3	.0000			
Ekstrak Kombinasi	3		8.1167		
Kitosan	3		10.3233		
Nanopartikel Kombinasi	3			25.4333	
Nanopartikel Kitosan	3			25.3100	
K+	3				31.3333
Sig.		1.000	.287	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					

1. Uji Normalitas (*E.coli*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter Zona Hambat
N		18
Normal Parameters ^a	Mean	10.4667
	Std. Deviation	8.95937
Most Extreme Differences	Absolute	.158
	Positive	.158
	Negative	-.121
Kolmogorov-Smirnov Z		.670
Asymp. Sig. (2-tailed)		.760
a. Test distribution is Normal.		

2. Uji Homogenitas

Descriptives

Diameter Zona Hambat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Nanopartikel Kombinasi	3		
Ekstrak Kombinasi	3	5.0533	.74574	.43056	3.2008	6.9059	4.20	5.58
Nanopartikel Kitosan	3	10.8100	1.00464	.58003	8.3143	13.3057	9.65	11.40
Kitosan	3	5.9567	.95102	.54907	3.5942	8.3191	5.10	6.98
K+	3	27.2100	1.87232	1.08099	22.5589	31.8611	25.05	28.37
K-	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	18	10.4667	8.95937	2.11174	6.0113	14.9221	.00	28.37

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.527	5	12	.015

3. Uji One Way

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1351.693	5	270.339	251.448	.000
Within Groups	12.902	12	1.075		
Total	1364.595	17			

4. Uji Lanjut Tukey

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD

Bahan Uji	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K-	3	.0000				
Ekstrak Kombinasi	3		5.0533			
Kitosan	3		5.9567			
Nanopartikel Kitosan	3			10.8100		
Nanopartikel Kombinasi	3				13.7700	
K+	3					27.2100
Sig.		1.000	.885	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						

1. Uji Normalitas (*C.albicans*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter Zona Hambat
N		18
Normal Parameters ^a	Mean	10.4061
	Std. Deviation	9.99987
Most Extreme Differences	Absolute	.300
	Positive	.300
	Negative	-.149
Kolmogorov-Smirnov Z		1.272
Asymp. Sig. (2-tailed)		.079
a. Test distribution is Normal.		

2. Uji Homogenitas

Descriptives

Diameter Zona Hambat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Nanopartikel Kombinasi	3		
Ekstrak Kombinasi	3	8.9767	.75062	.43337	7.1120	10.8413	8.11	9.42
Nanopartikel Kitosan	3	6.8000	1.04403	.60277	4.2065	9.3935	6.10	8.00
Kitosan	3	5.6300	.64583	.37287	4.0257	7.2343	4.94	6.22
K+	3	30.7067	2.99687	1.73024	23.2620	38.1513	28.29	34.06
K-	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	18	10.4061	9.99987	2.35699	5.4333	15.3789	.00	34.06

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.200	5	12	.009

3. Uji One Way

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1674.795	5	334.959	159.766	.000
Within Groups	25.159	12	2.097		
Total	1699.954	17			

4. Uji Lanjut Tukey

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD

Bahan Uji	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K-	3	.0000			
Kitosan	3		5.6300		
Nanopartikel Kitosan	3		6.8000	6.8000	
Ekstrak Kombinasi	3		8.9767	8.9767	
Nanopartikel Kombinasi	3			10.3233	
K+	3				30.7067
Sig.		1.000	.119	.094	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

--	--	--	--	--	--

L.4.3 Tabel Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Perlakuan	Mikroba uji	Ulangan	Konsentrasi (%)				
			5	2,5	1,25	0,625	0,313
Ekstrak Kombinasi	<i>S.aureus</i>	1	-	-	+	+++	+++
		2	-	-	+	+++	+++
		3	-	-	+	+++	+++
	<i>E.coli</i>	1	-	-	+++	+++	+++
		2	-	-	+++	+++	+++
		3	-	-	+++	+++	+++
	<i>C.albicans</i>	1	-	-	++	+++	+++
		2	-	-	++	+++	+++
		3	-	-	++	+++	+++
Nanopartikel Kombinasi	<i>S.aureus</i>	1	++	++	++	+++	+++
		2	++	++	+++	+++	+++
		3	++	++	+++	+++	+++
	<i>E.coli</i>	1	++	++	+++	+++	+++
		2	++	++	++	+++	+++
		3	++	++	+++	+++	+++
	<i>C.albicans</i>	1	++	++	+	++	+++
		2	++	++	++	+++	+++
		3	++	++	++	++	+++
Kitosan	<i>S.aureus</i>	1	+	+	++	+++	+++

	<i>E.coli</i>	2	+	+	++	+++	+++
		3	+	+	++	+++	+++
		1	+	++	++	+++	+++
		2	+	++	+++	+++	+++
		3	+	++	++	+++	+++
		1	+	++	++	+++	+++
	<i>C.albicans</i>	2	+	++	++	+++	+++
		3	+	++	++	+++	+++
		1	+	++	++	+++	+++
Nanopartikel Kitosan	<i>S.aureus</i>	1	++	+	+	+++	+++
		2	++	+	+	+++	+++
		3	++	++	++	+++	+++
	<i>E.coli</i>	1	++	+++	+++	+++	+++
		2	++	+++	+++	+++	+++
		3	++	+++	+++	+++	+++
	<i>C.albicans</i>	1	+	++	++	+++	+++
		2	+	++	++	+++	+++
		3	+	+	+	++	+++
K+	<i>S.aureus</i>	1	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-
	<i>E.coli</i>	1	-	-	-	-	+
		2	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-
	<i>C.albicans</i>	1	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-
K-	<i>S.aureus</i>	1	++	++	++	+++	+++
		2	++	++	++	+++	+++
		3	++	++	++	+++	+++
	<i>E.coli</i>	1	+++	+++	+++	+++	+++
		2	+++	+++	+++	+++	+++
		3	+++	+++	+++	+++	+++
	<i>C.albicans</i>	1	++	++	+	++	+++
		2	++	++	+	++	+++
		3	++	++	+	++	+++

L.4.3 Tabel Hasil TPC

<i>Escherichia coli</i>	5%	2,5%	1,25%	0,625%	0,313%
A (NKMB, U1)	0	0	244	TBUD	TBUD
B (NKMB, U2)	0	5	164	TBUD	TBUD
C (NKMB, U3)	0	10	253	TBUD	TBUD
D (KMB, U1)	23	96	TBUD	TBUD	TBUD
E (KMB, U2)	53	133	TBUD	TBUD	TBUD
F (KMB, U3)	31	51	TBUD	TBUD	TBUD
G (N.Kit, U1)	0	0	216	TBUD	TBUD
H (N.Kit, U2)	0	0	341	TBUD	TBUD
I (N.Kit, U3)	0	0	860	TBUD	TBUD
A (K+, U1)	0	0	0	0	2
B (K+, U2)	0	0	0	0	3
C (K+, U3)	0	0	0	0	2
D (K-, U1)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
E (K-, U2)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
F (K-, U3)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
<i>Staphylococcus aureus</i>	5%	2,5%	1,25%	0,625%	0,313%
A (NKMB, U1)	0	2	TBUD	TBUD	TBUD
B (NKMB, U2)	0	0	68	TBUD	TBUD
C (NKMB, U3)	0	0	105	TBUD	TBUD
D (KMB, U1)	0	6	22	212	TBUD
E (KMB, U2)	0	14	59	514	TBUD
F (KMB, U3)	0	8	41	684	TBUD
G (N.Kit, U1)	0	4	560	TBUD	TBUD
H (N.Kit, U2)	0	10	812	TBUD	TBUD
I (N.Kit, U3)	3	35	TBUD	TBUD	TBUD
A (K+, U1)	0	0	0	0	1
B (K+, U2)	0	0	0	0	2
C (K+, U3)	0	0	0	0	1
D (K-, U1)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
E (K-, U2)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
F (K-, U3)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
<i>Candida albicans</i>	5%	2,5%	1,25%	0,625%	0,313%
A (NKMB, U1)	1	36	54	87	TBUD
B (NKMB, U2)	0	18	61	TBUD	TBUD
C (NKMB, U3)	9	14	284	TBUD	TBUD
D (KMB, U1)	25	68	304	TBUD	TBUD
E (KMB, U2)	7	46	105	TBUD	TBUD
F (KMB, U3)	0	29	TBUD	TBUD	TBUD
G (N.Kit, U1)	24	113	TBUD	TBUD	TBUD

H (N.Kit, U2)	30	129	TBUD	TBUD	TBUD
I (N.Kit, U3)	51	98	TBUD	TBUD	TBUD
A (K+, U1)	0	0	0	0	2
B (K+, U2)	0	0	0	0	1
C (K+, U3)	0	0	0	0	1
D (K-, U1)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
E (K-, U2)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
F (K-, U3)	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD

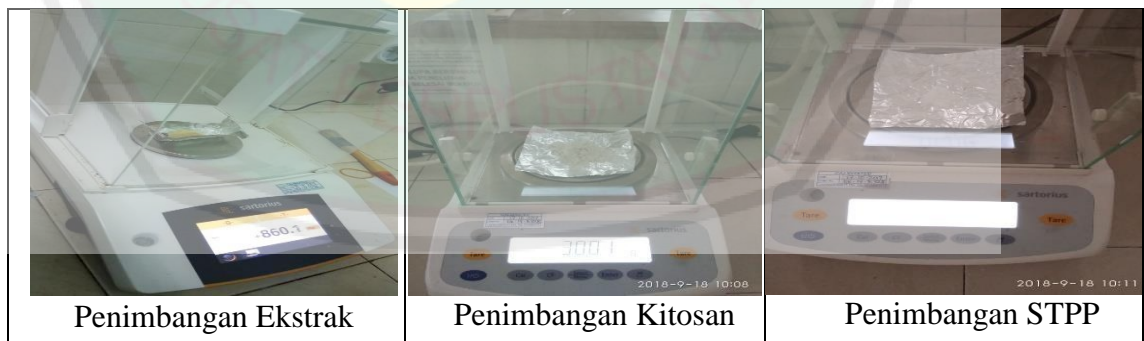


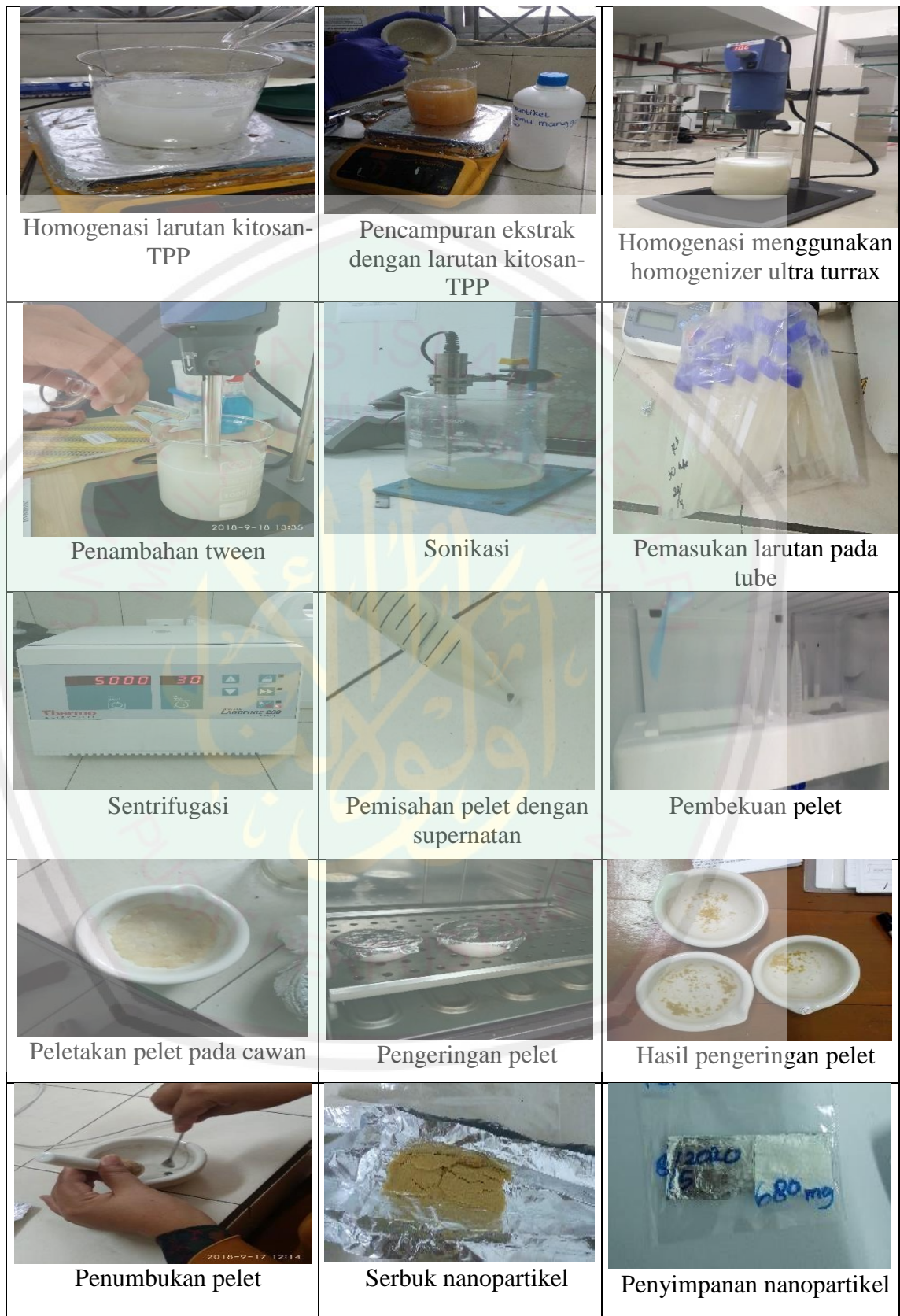
Lampiran 5. Gambar Pengamatan

L.5.1 Proses Ekstraksi





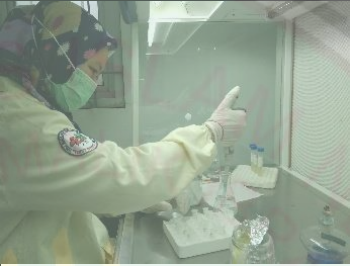
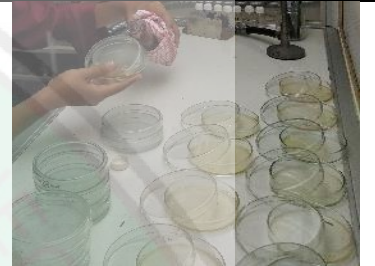




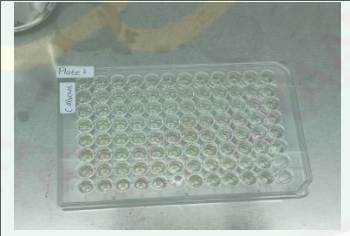






L.5.2 Proses Pembuatan Nanopartikel



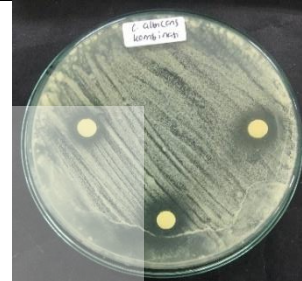

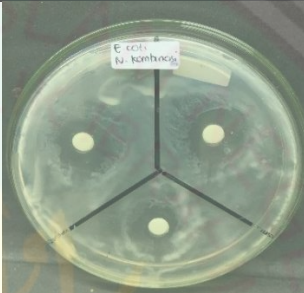


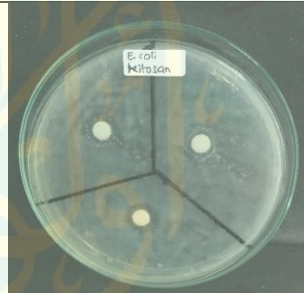
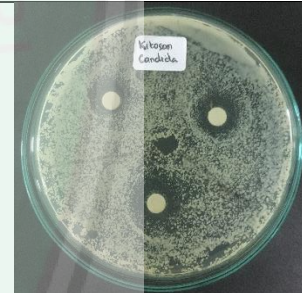
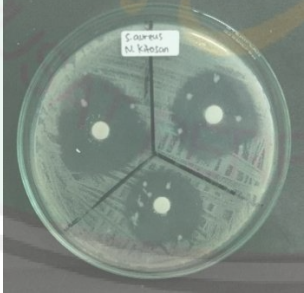
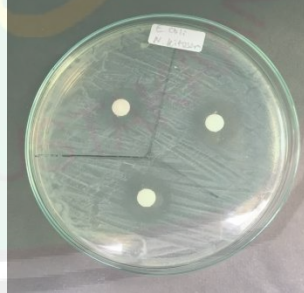


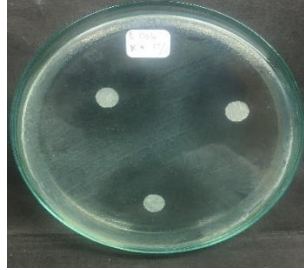



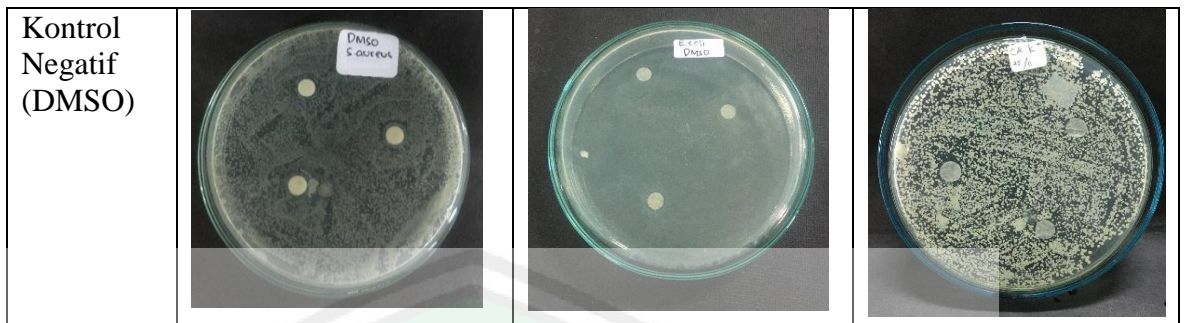


L.5.3 Uji Antimikroba

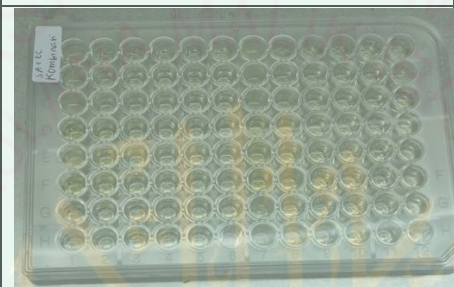
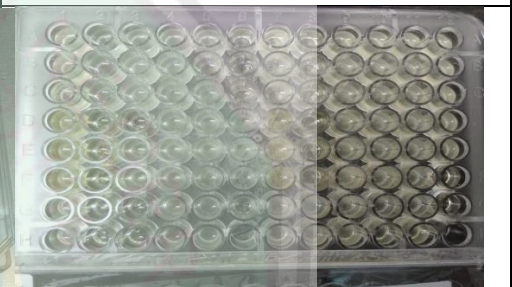
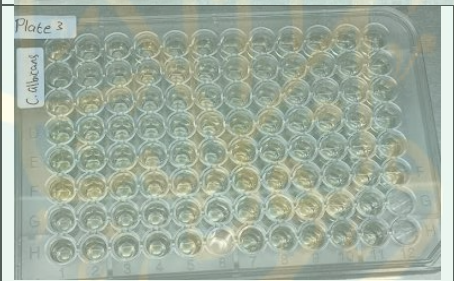
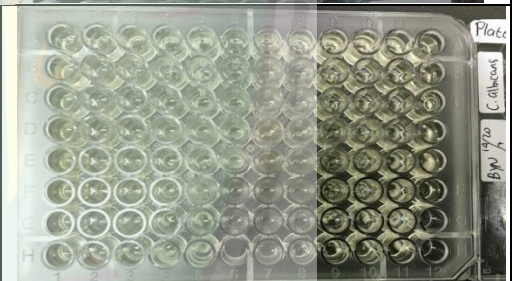

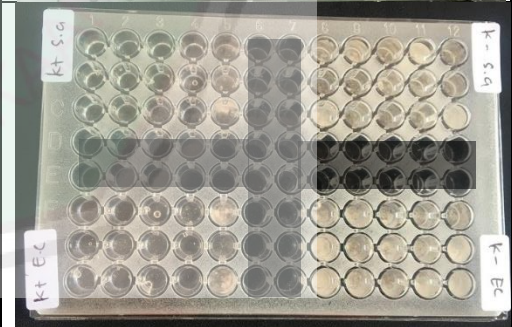
		
<p>Isolat murni</p>	<p>Pengukuran OD preparasi McFarland</p>	<p>Kertas cakram steril</p>
		
<p>Penimbangan bahan larutan uji</p>	<p>Persiapan mikroba uji</p>	<p>Penuangan media</p>
		
<p>Perendaman kertas cakram pada larutan uji</p>	<p>Penanaman kertas cakram pada media</p>	<p>Pembungkusan cawan petri</p>
		
<p>Mikrodilusi KHM dan KBM</p>	<p>Mikrodilusi</p>	<p>Inkubasi</p>
		
<p>Pengamatan dan dokumentasi</p>	<p>Penghitungan koloni</p>	<p>Pengukuran diameter zona hambat</p>

L.5.4 Hasil Difusi Cakram

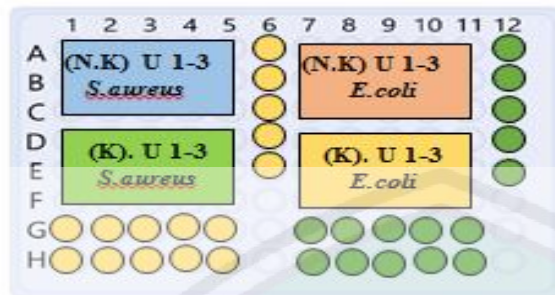
Sampel Uji	Gambar Hasil Difusi Cakram		
	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Ekstrak Kombinasi			
Nanopartikel Kombinasi			
Kitosan			
Nanopartikel Kitosan			
Kontrol Positif (Klindamisin/ Nistatin)			



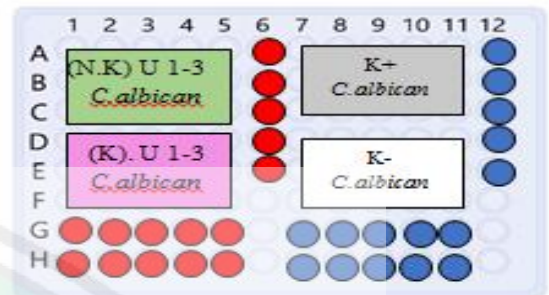
L.5.5 Hasil Mikrodilusi

Sampel	Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi
<p><i>S.aureus</i> dan <i>E.coli</i></p>		
<p><i>C. albicans</i></p>		
<p>Kontrol</p>		

Well 1



Well 2



Well 3






Keterangan Well 1





1. = Nanopartikel kombinasi terhadap *S. aureus* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
2. = Ekstrak kombinasi terhadap *S. aureus* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
3. = Nanopartikel kombinasi terhadap *E. coli* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.7 = 5%; 8 = 2.5%; 9 = 1.25%; 10 = 0.625%; 11 = 0.313%).
4. = Ekstrak kombinasi terhadap *E. coli* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.7 = 5%; 8 = 2.5%; 9 = 1.25%; 10 = 0.625%; 11 = 0.313%).
5. = Nanopartikel kitosan terhadap *S. aureus* (G:u1; H:u2; 6:u3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
6. = Nanopartikel kitosan terhadap *E. coli* ((G:u1; H:u2; 12:u3).
Konsentrasi (No.7 = 5%; 8 = 2.5%; 9 = 1.25%; 10 = 0.625%; 11 = 0.313%).

Keterangan Well 2

1. = Nanopartikel kombinasi terhadap *C. albican* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
2. = Ekstrak kombinasi terhadap *C. albican* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
3. = K+ Nistatin terhadap *C. albican* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).

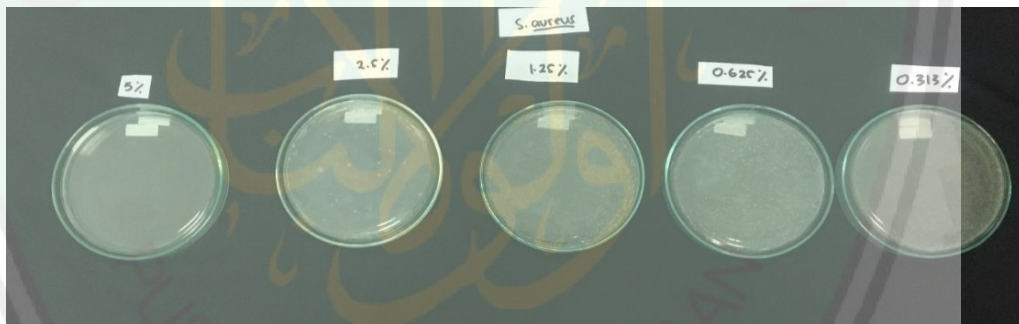
4.  = K- Nistatin terhadap *C. albican* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
5.  = Nanopartikel kitosan terhadap *C.albican* (G:u1; H:u2; 6:u3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
6.  = Kitosan terhadap *C.albican* (G:u1; H:u2; 12:u3).
Konsentrasi (No.7 = 5%; 8 = 2.5%; 9 = 1.25%; 10 = 0.625%; 11 = 0.313%).

Keterangan Well 3

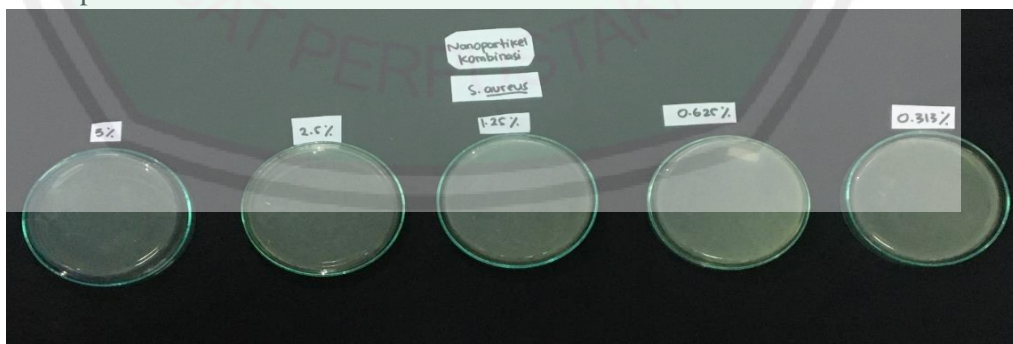
1.  = K+ Klindamisin terhadap *S.aureus* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
2.  = K- Klindamisin terhadap *S.aureus* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
3.  = K+ Klindamisin terhadap *E.coli* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).
4.  = K- Klindamisin terhadap *E.coli* (ulangan 1-3).
Konsentrasi (No.1 = 5%; 2 = 2.5%; 3 = 1.25%; 4 = 0.625%; 5 = 0.313%).

L.5.6 Hasil TPC

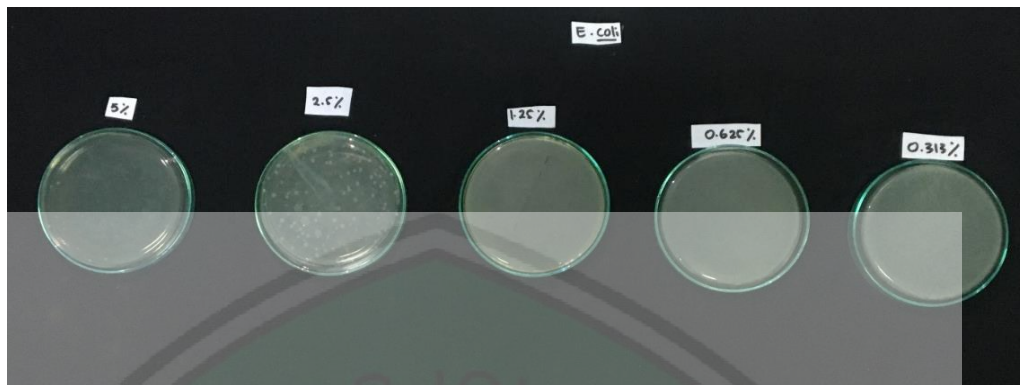
1. Ekstrak Kombinasi *S.aureus*



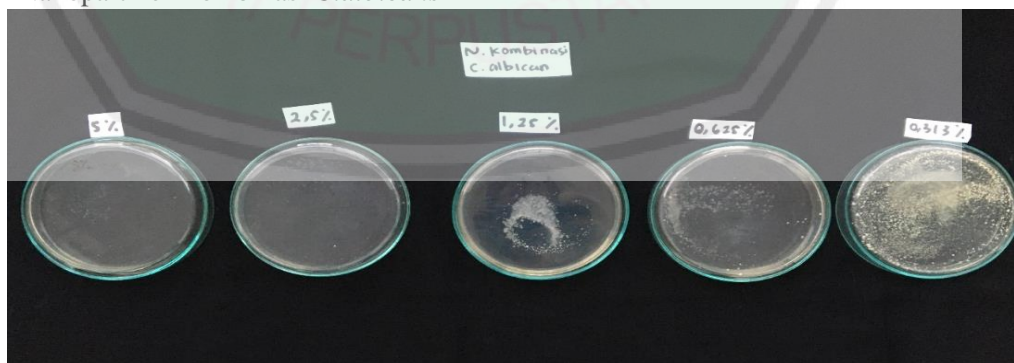
2. Nanopartikel Kombinasi *S.aureus*

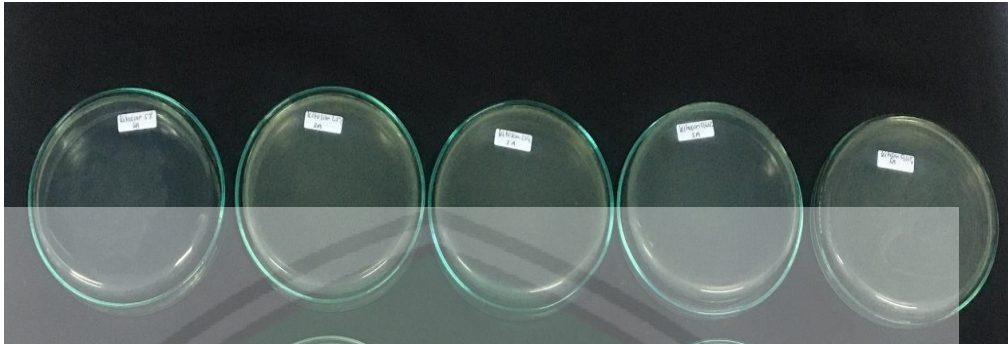
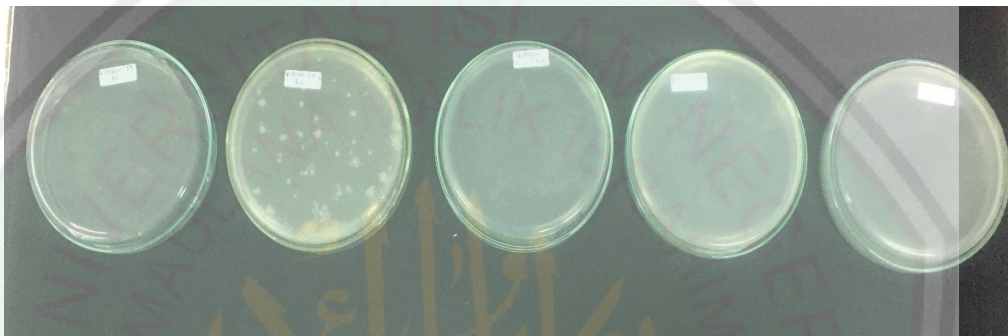
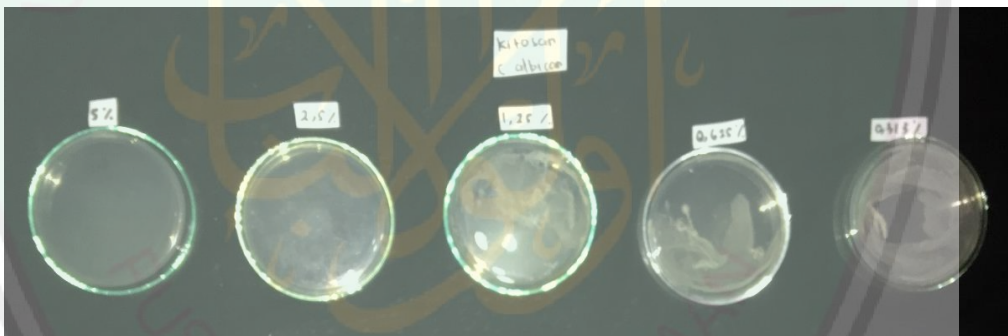
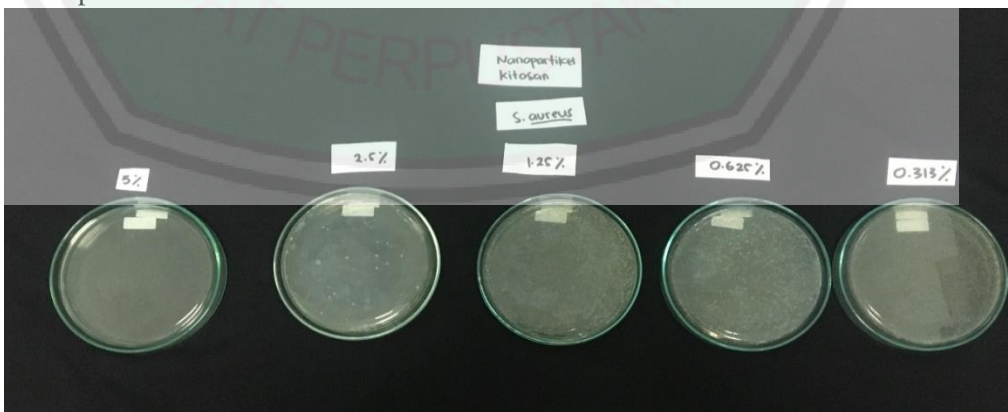


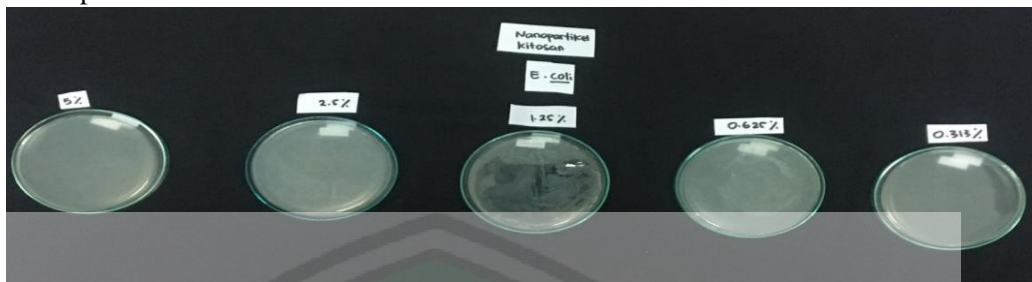
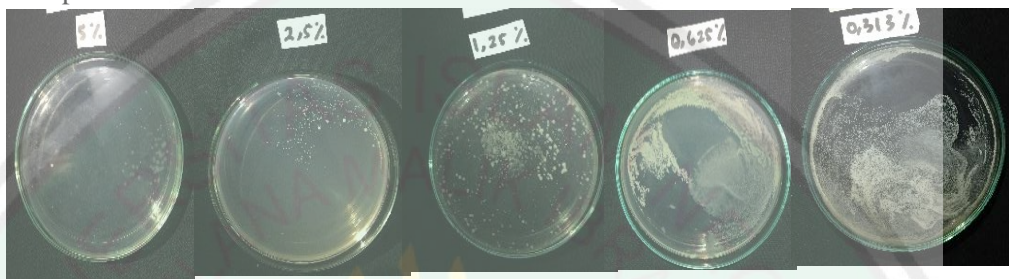
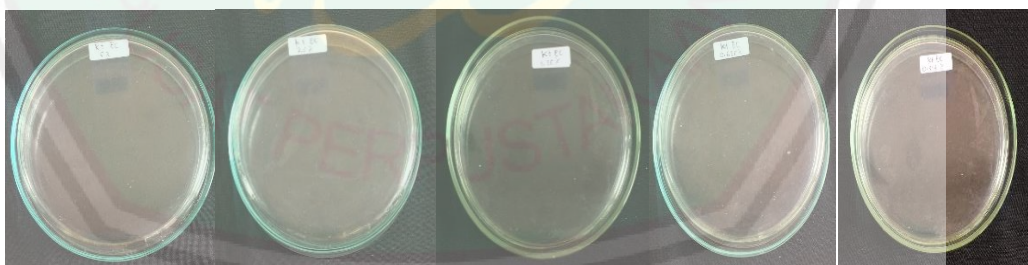
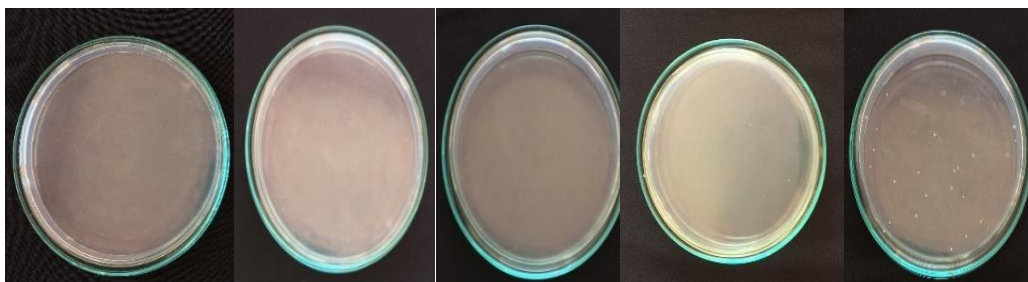
3. Ekstrak Kombinasi E.coli



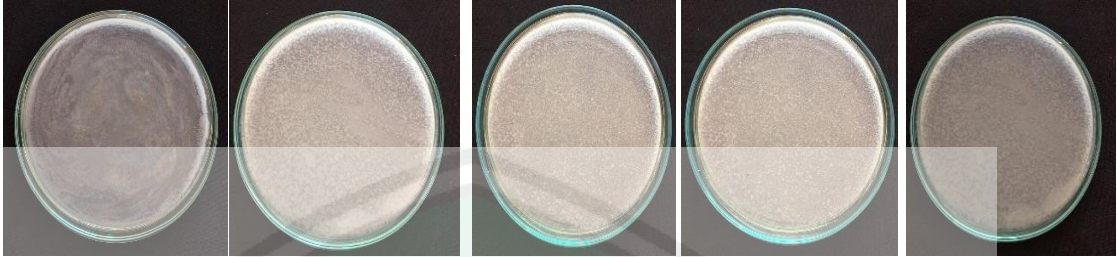
4. Nanopartikel Kombinasi E.coli

5. Ekstrak Kombinasi *C.albicans*6. Nanopartikel Kombinasi *C.albicans*

7. Kitosan *S.aureus*8. Kitosan *E.coli*9. Kitosan *C.albicans*10. Nanopartikel Kitosan *S.aureus*

11. Nanopartikel Kitosan *E.coli*12. Nanopartikel Kitosan *C. albicans*13. K+ *S.aureus*14. K+ *E.coli*15. K+ *C.albican*

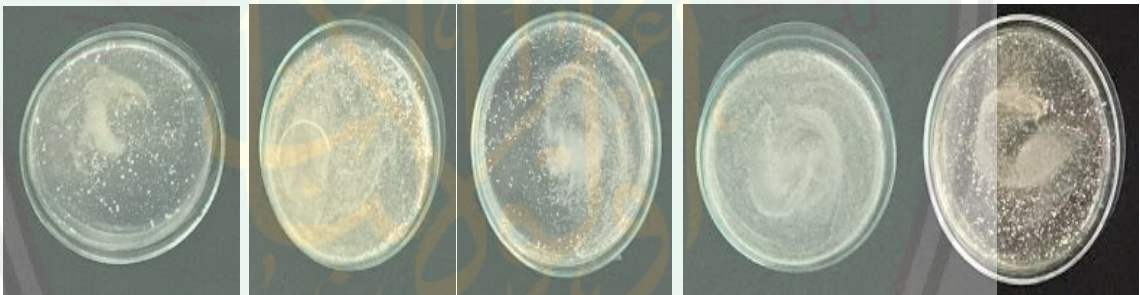
16. K- S.aureus



17. K- E. coli



18. K- C. Albican





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Nur Rohmah Tria Romadhoni
 NIM : 15620098
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Genap TA 2020
 Pembimbing : Prof. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
 Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val. Dan *Acorus calamus* L. Secara In Vitro

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	21 Februari 2019	Konsultasi Judul Penelitian	1.
2.	25 Maret 2019	Konsultasi BAB I	2.
3.	15 April 2019	Revisi BAB I	3.
4.	23 Mei 2019	Konsultasi BAB I dan II	4.
5.	27 Mei 2019	Revisi BAB I dan II	5.
6.	16 Juli 2019	Konsultasi BAB I, II dan III	6.
7.	06 Agustus 2019	Revisi BAB I, II dan III	7.
8.	09 Agustus 2019	ACC BAB I, II dan III	8.
9.	26 November 2019	Konsultasi BAB I, II, III dan IV	9.
10.	02 Desember 2019	Konsultasi BAB III dan IV	10.
11.	14 September 2020	Konsultasi BAB IV dan V	11.
12.	28 September 2020	Konsultasi BAB I, II, III, IV dan V	12.
13.	04 November 2020	ACC Skripsi	13.

Pembimbing Skripsi,

Prof. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
 NIP. 19650509 199903 2 002



Malang, 04 November 2020
 Ketua Prodi Biologi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Nur Rohmah Tria Romadhoni
NIM : 15620098
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020
Pembimbing : Prof. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val. Dan *Acorus calamus* L. Secara In Vitro

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	06 Agustus 2019	Konsultasi integrasi ayat dan hadist BAB I dan II	1.
2.	14 Agustus 2019	ACC integrasi ayat dan hadist BAB I dan II	2.
3.	28 September 2020	Konsultasi integrasi ayat dan hadist BAB I, II dan IV	3.
4.	02 Oktober 2020	Konsultasi integrasi ayat dan hadist BAB I, II dan IV	4.
5.	04 November 2020	ACC integrasi ayat dan hadist BAB I, II dan IV	5.

Pembimbing Agama Skripsi,

Mujahidin Ahmad, M. Sc.
NIP. 19860512 201903 1 002

Malang, 04 November 2020
Ketua Prodi Biologi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Nur Rohmah Tria R
NIM : 15620098
Judul : Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val. dan *Acorus calamus* L. Secara *In Vitro*

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc	25 %	
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		

Mengetahui,
 Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
 NIP. 19741018 200312 2 002