

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MELINJO  
(*Gnetum gnemon* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella*  
*dysenteriae* PENYEBAB DIARE**

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**SISKA IRMAYANTI**

**NIM. 200602110087**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2024**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MELINJO  
(*Gnetum gnemon* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella*  
*dysenteriae* PENYEBAB DIARE**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**SISKA IRMAYANTI**

**NIM: 200602110087**

**Diajukan kepada:**

**Fakultas Sains dan Teknologi**

**Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang**

**untuk Memenuhi Salah satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana  
Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**

**MALANG**

**2024**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MELINJO  
(*Gnetum gnemon L.*) TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae* PENYEBAB  
DIARE**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**SISKA IRMAYANTI**  
NIM. 200602110087

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
tanggal: 12 Desember 2019

**Pembimbing I**



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si  
NIP. 19671113 199402 2 001

**Pembimbing II**



Dr. H. Ahmad Barizi, M.A  
NIP. 19731212 199803 1 008

Mengetahui,  
**Ketua Program Studi Biologi**



Leika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MELINJO  
(*Gnetum gnemon* L.) TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae* PENYEBAB  
DIARE**

**SKRIPSI**

Oleh:

**SISKA IRMAYANTI**

**NIM: 200602110087**

Telah Dipertahankan  
di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu  
Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal 20 Desember 2024

Penguji Utama : Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc  
NIP. 19920507 201903 2 026  
Ketua Penguji : Dr. Muhammad Saefi, M.Pd  
NIP. 19920101 202203 1 002  
Sekertaris Penguji : Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si  
NIP. 19671113 199402 2 001  
Anggota Penguji : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A  
NIP. 19731212 199803 1 008

(.....)  
(.....)  
(.....)  
(.....)

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi



**Evika Sandi Savitri, M.P**

**NIP. 19741018 200312 2 002**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa Syukur kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala, atas kasih dan Rahmat-Nya yang tak pernah putus, kupersembahkan karya ini sebagai wujud dari perjalanan panjang yang dipenuhi pelajaran dan makna.

Untuk ibuku tercinta, ibu Aminah, sumber kedamaian dalam setiap langkahku. Senyummu adalah lentera di kegelapan, doamu adalah pelindung yang setia. Kau adalah benteng kesabaran, mengajarkan bahwa cinta sejati tidak pernah menuntut, hanya memberi. Terima kasih karena selalu mendukung dengan sepenuh hati, tanpa pernah lelah atau menyerah.

Untuk bapakku, Bapak alm Subhan, yang meski kini hanya dapat kusapa melalui doa, kehadiranmu selalu terasa dalam setiap ingatan. Terima kasih atas nilai-nilai kehidupan, semangat perjuangan, dan cinta yang kau tanamkan. Jejak langkahmu adalah inspirasiku untuk terus melangkah, meski badai menghadang.

Dosen pembimbing, yang dengan sabar memberikan ilmu, bimbingan, dan arahan sepanjang proses ini. Setiap nasihatmu adalah petunjuk berharga yang membimbingku hingga akhir perjalanan. Terima kasih atas kesabaran dan waktu yang telah diberikan.

Untuk Masku Budi dan Mas Rizal, terima kasih atas setiap dukungan, perhatian, dan nasihat yang selalu hadir di saat-saat penting. Untuk Mbak Caca, terima kasih atas uluran tangan dan kebaikan yang sering menjadi penguat di tengah keletihan.

Untuk Enggar, yang dengan ketulusan hati dan perhatian yang tak mengenal batas selalu hadir di setiap titik perjalanan ini. Terima kasih karena menjadi pelabuhan yang menenangkan, tempat aku berbagi rasa dan menemukan kekuatan.

Untuk teman-temanku — Leony, Ema, Ipe, Wanda, dan Sari — terima kasih atas kebersamaan dan semangat yang kalian bagikan. Kehadiran kalian menjadi penghibur dan penguat di tengah perjalanan penuh liku ini.

Akhirnya, untuk diriku sendiri, terima kasih telah bertahan dalam setiap badai, mengatasi setiap ketakutan, dan tetap melangkah meski jalannya sulit. Semoga karya sederhana ini dapat menjadi langkah kecil menuju kehidupan yang lebih bermakna dan ilmu yang bermanfaat.

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Siska Irmayanti  
NIM : 200602110087  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Melinjo  
(*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*  
Penyebab Diare

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau 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 hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 29 November 2024

Yang membuat pernyataan



Siska Irmayanti

NIM. 200602110087

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

## MOTTO

*“Allah tidak akan membebani seseorang, melainkan sesuai dengan kesanggupannya”*

(QS. Al-Baqarah: 286)

*“Letakkan aku dalam hatimu, maka aku akan meletakkanmu dalam hatiku”*

(QS. Al-Baqarah: 152)

*“Aku akan berlari, saat kamu memanggil namaku”*

(QS. Al-Baqarah: 186)

“Life can be heavy, especially if you try to carry it all at once. Part of growing up and moving into new chapters of your life is about catch and release. What I mean by that is, knowing what things to keep, and what things to release. You can’t carry all things.

Decide what is yours to hold and let the rest go.” -Taylor Swift

“Trust to Allah for everything no matter what. You lose trust to Allah, you win you trust to Allah, you gain you trust to Allah, you have a problem you trust to Allah, things are not going your way, you thank him even more and you talk to him, that’s a very good habit to talk to Allah”

**UJI EFEKTIVITAS ANTIABKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MELINJO  
(*Gnetum gnemon* L.) TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae* PENYEBAB  
DIARE**

Siska Irmayanti, Retno Susilowati, Ahmad Barizi

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi,  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRAK**

Diare merupakan salah satu penyakit yang sering menyerang masyarakat, terutama disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*. Pengobatan disentri basiler dilakukan dengan pemberian antibiotik, namun *S. dysenteriae* telah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik seperti trimethoprim-sulfamethoxazole, kloramfenikol, dan ampicilin. Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah dengan memanfaatkan senyawa aktif dari daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak etanol daun melinjo terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* dan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) serta Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak tersebut. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan melakukan pengujian daya hambat daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap bakteri *S. dysenteriae*. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode mikrodilusi untuk menentukan KHM dan KBM. Analisis data menggunakan uji One-way ANOVA untuk menguji perbedaan signifikan antar perlakuan konsentrasi ekstrak, dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun melinjo memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. dysenteriae*, dengan KHM pada konsentrasi 30% yang menghasilkan jumlah sel bakteri sebesar  $6,1 \times 10^3$  CFU/mL, dan KBM tercapai pada konsentrasi 60% dengan jumlah sel bakteri yang tidak terdeteksi. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) antar konsentrasi, dengan efektivitas antibakteri yang semakin meningkat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak.

**Kata Kunci:** Antibakteri, Daun Melinjo, *Shigella dysenteriae*

**ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS TEST OF ETHANOLIC EXTRACT OF  
MELINJO LEAVES (*Gnetum gnemon L.*) AGAINST *Shigella dysenteriae*  
BACTERIA CAUSING DIARRHEA**

Siska Irmayanti, Retno Susilowati, Ahmad Barizi

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, The State Islamic  
University of Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRACT**

Diarrhea is one of the diseases that often affects communities, primarily caused by the bacterium *Shigella dysenteriae*. The treatment of bacillary dysentery is carried out using antibiotics; however, *S. dysenteriae* has developed resistance to several antibiotics such as trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol, and ampicillin. One alternative to address this issue is utilizing active compounds from melinjo leaves (*Gnetum gnemon L.*) as antibacterial agents. This study aimed to examine the effectiveness of ethanol extract from melinjo leaves against the growth of *S. dysenteriae* and to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the extract. This research was an experimental laboratory study that tested the inhibitory effect of melinjo leaves (*Gnetum gnemon L.*) against *S. dysenteriae*. Antibacterial activity was tested using the microdilution method to determine the MIC and MBC. Data analysis employed a one-way ANOVA test to examine significant differences between extract concentration treatments, followed by the Tukey test. The study results showed that ethanol extract from melinjo leaves exhibited antibacterial activity against *S. dysenteriae*, with the MIC at a concentration of 30%, producing a bacterial cell count of  $6.1 \times 10^3$  CFU/mL, and the MBC achieved at a concentration of 60%, with bacterial cells undetectable. Analysis results indicated significant differences ( $p < 0.05$ ) among the concentrations, with antibacterial effectiveness increasing alongside higher extract concentrations.

**Keywords:** Antibacterial, Melinjo Leaves, *Shigella dysenteriae*



## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Wr. Wb.*

*Bismillahirrohmanirrohim*, Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas Rahmat dan hidayah-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Penyebab Diare”. Tidak lupa sholawat dan salam penulis panjatkan kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW. Yang telah menegakan diinul islam yang terpatri hingga akhirul zaman Aamiin.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberi dorongan dan bimbingan sampai terselesaikannya tugas akhir ini khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A 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 Kaprodi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A selaku dosen pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga terselesaikannya tugas akhir ini.
5. Bapak Dr. Dwi Suheriyanto, MP, selaku Dosen wali yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
6. Seluruh dosen dan laboran di program studi biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani dan membantu penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.

7. Bapak dan Ibuku serta segenap keluarga besar tercinta yang telah memberikan doa dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan program studi
8. Terima kasih kepada teman-teman biologi Angkatan 2020 yang telah memberikan semangat

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis menjadi pahala dan semoga mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis dengan baik dan cermat, apabila terdapat kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

*Wassalamualaikum Wr. Wb.*

Malang, 18 September 2024

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....	vii
MOTTO .....	viii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT .....	x
المخلص .....	xi
KATA PENGANTAR .....	xii
DAFTAR ISI .....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
DAFTAR SINGKATAN .....	xix
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan .....	7
1.4 Hipotesis .....	7
1.5 Manfaat Penelitian .....	7
1.6 Batasan Masalah .....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	10
2.1 Melinjo ( <i>Gnetum gnemon</i> L.) .....	10
2.1.1 Morfologi dan Taksonomi .....	10
2.1.2 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Al-Qur'an .....	12
2.1.3 Kandungan Fitokimia Tanaman Melinjo ( <i>Gnetum gnemon</i> L.) ...	13
2.2 <i>Shigella dysenteriae</i> .....	16
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....	16
2.2.2 Struktur Antigen Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....	17
2.2.3 Toksin yang dihasilkan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....	17

2.3 Disentri Basiler .....	18
2.3.1 Definisi Basiler .....	18
2.3.2 Epidemiologi .....	18
2.3.3 Patogenesis dan Patologi .....	19
2.3.4 Tanda Klinis Penderita Disentri .....	21
2.3.5 Pencegahan dan Pengobatan Disentri .....	21
2.4 Antimikroba .....	22
2.4.1 Aktivitas Antimikroba .....	22
2.4.2 Mekanisme Kerja Antimikroba .....	23
2.5 Uji antimikroba .....	26
2.5.1 Metode Difusi Cakram .....	26
2.5.2 Metode Dilusi .....	27
2.5.2.1 Dilusi Cair .....	27
2.5.2.2 Dilusi Padat .....	28
2.6 Metode Ekstraksi .....	28
2.7 Daya Hambat Bakteri .....	29
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>31</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	31
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
3.3 Variabel Penelitian .....	31
3.4 Alat dan Bahan .....	31
3.4.1 Alat .....	31
3.4.2 Bahan .....	32
3.5 Prosedur Penelitian .....	32
3.5.1 Pembuatan Ekstrak Daun Melinjo .....	32
3.5.1.1 Preparasi Sampel .....	32
3.5.1.2 Proses Ekstraksi .....	32
3.5.2 Pengenceran .....	32
3.5.3 Pembuatan Larutan Ciprofloxacin dan Kloramfenikol .....	33
3.5.4 Uji Antimikroba .....	33
3.5.4.1 Sterilisasi Alat .....	33
3.5.4.2 Pembuatan Media MHA .....	33
3.5.4.3 Pembuatan Media MHB .....	34
3.5.4.4 Peremajaan Bakteri .....	34
3.5.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri .....	34
3.5.4.6 Pembuatan Larutan Standar Mc. Farland .....	34
3.5.4.7 Uji Zona Hambat (Kirby-baurer) .....	34
3.5.4.8 Uji KHM .....	35
3.5.4.9 Uji KBM .....	36
3.6 Analisis Data .....	36
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
4.1 Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Uji <i>Kirby-baurer</i> (Uji Zona Hambat)38	

4.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Daun Melinjo ( <i>Gnetum gnemon</i> L.) terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....	42
4.2.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun melinjo ( <i>Gnetum gnemon</i> L.) terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....	42
4.2.2 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun melinjo ( <i>Gnetum gnemon</i> L.) terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....	45
4.3 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Melinjo Terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> Berdasarkan Sudut Pandang Islam .....	48
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	<b>52</b>
5.1 Kesimpulan .....	52
5.2 Saran .....	52
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>62</b>

## DAFTAR TABEL

2.1 Hasil Skrining Fitokimia Daun Melinjo ( <i>Gnetum gnemon</i> L.) .....	13
2.2 Kategori Daya Hambat Bakteri Menurut David Stout .....	30
3.1 Pengenceran Ekstrak .....	33
4.1 Hasil Pengujian Zona Hambat ( <i>Kirby-baurer</i> ) .....	40
4.2 Hasil Uji KHM Secara Kualitatif ( <i>Microdilution test</i> ) .....	43
4.3 Hasil Perhitungan Cawan ( <i>Total Plate Count</i> ) .....	46

## DAFTAR GAMBAR

2.1 Tumbuhan Melinjo ( <i>Gnetum gnemon</i> L.) .....	11
2.2 Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....	16
2.3 Proses Infeksi Dinding Usus Oleh Shigella .....	21
2.4 Penghambatan Sintesis Dinding Sel .....	24
2.5 Penghambatan Fungsi Membran sel .....	24
2.6 Penghambatan Sintesis Protein .....	25
2.7 Mekanisme Kerja Antibakteri pada Sel Bakteri .....	26
2.8 Gambar Rumus Perhitungan Diameter Zona Hambat .....	30
4.1 Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Melinjo .....	39
4.2 Hasil Pengamatan KHM ( <i>Microdilution test</i> ) .....	43
4.3 <i>Total Plate Count</i> (TPC) .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan penelitian .....	62
Lampiran 2. Rumus-rumus .....	63
Lampiran 3. Diameter Zona Hambat .....	65
Lampiran 4. Uji Normalitas Daya Hambat .....	66
Lampiran 5. Uji Homogenitas .....	66
Lampiran 6. Uji ANOVA .....	66
Lampiran 7. Uji Lanjutan BNT (Tukey) .....	67
Lampiran 8. Gambar dan Data Hasil Uji <i>Microdilution Tube</i> .....	68
Lampiran 9. Data <i>Total Plate Count</i> .....	69
Lampiran 10. Gambar Dokumentasi Penelitian .....	71
Lampiran 11. Hasil Identifikasi Asal Mikroorganisme .....	74
Lampiran 12. Lembar Kosultasi .....	76
Lampiran 13. Cek Plagiasi .....	78

## DAFTAR SINGKATAN

Simbol/singkatan	Keterangan
nm	nanometer
mm	milimeter
TAE	<i>Tannic Acid Equivalent</i>
QE	<i>Quercetin Equivalent</i>
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
MHB	<i>Mueller Hinton Broth</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Wilayah tropis dan wilayah dengan dinamika sosial ekonomi yang tinggi merupakan daerah endemik bagi berbagai penyakit menular. Selain itu, daerah ini memiliki potensi besar untuk munculnya penyakit infeksi baru. Penyakit menular tetap menjadi masalah utama dalam kesehatan masyarakat di Indonesia. Penyakit menular tidak mengenal batas administratif, seperti antar provinsi, kabupaten/kota, bahkan antar negara. Upaya untuk menghilangkan sumber penyakit melibatkan deteksi dan pencarian kasus secara proaktif serta mengurangi faktor risiko melalui intervensi terhadap lingkungan dan perilaku. Endemik ditandai oleh keberadaan penyakit yang menetap dalam masyarakat pada lokasi atau populasi tertentu. Suatu infeksi dikategorikan sebagai endemik jika kondisi penularannya terjadi secara rata-rata pada setiap individu yang terinfeksi kepada individu lain (Achmadi, 2009).

Salah satu penyakit menular adalah diare. Diare merupakan suatu keadaan pengeluaran tinja yang tidak normal atau tidak seperti biasanya. Perubahan yang terjadi berupa perubahan peningkatan volume, keenceran, dan frekuensi dengan atau tanpa lendir darah lebih dari 3-4 kali/hari (Selviana *et al.*, 2017). Menurut WHO pada tahun 2017 menyatakan bahwa diare menjadi penyebab utama kematian kedua anak dibawah usia lima tahun. Setiap tahunnya berkisar 1,7 miliar kasus dan mematikan 525.000 anak dibawah usia lima tahun (balita). Jumlah kematian balita karena diare di Indonesia tahun 2015 yakni 8.600 orang, yang merupakan 12 dari 15 negara dengan angka kematian balita tertinggi di dunia dan tertinggi di Asia Tenggara. Tahun 2018 angka kejadian diare meningkat sebanyak 4.504.524 orang yang terdaftar di fasilitas Kesehatan, cakupan balita sebesar 40,90%. Kasus diare menurun pada tahun 2019 dibandingkan dengan tahun sebelumnya sekitar 4.485.513 orang. Cakupan balita yang mengalami diare di Indonesia tahun 2019 yakni 40%, hal ini menunjukkan bahwa penyakit diare masih banyak bermunculan di dunia kesehatan.

Penyakit diare dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain keadaan lingkungan, perilaku masyarakat, pelayanan masyarakat, gizi, kependudukan,

pendidikan yang meliputi pengetahuan, dan keadaan sosial ekonomi (Widoyono, 2008). Sementara itu penyebab dari penyakit diare itu sendiri antara lain virus yaitu *Rotavirus* (40-60%), bakteri *Escherichia coli* (20- 30%), *Shigella* sp. (1-2%) dan parasit *Entamoeba histolytica* (<1%). Diare masih menjadi masalah Kesehatan Masyarakat di negara berkembang. Hal ini dapat dilihat dari tingginya morbiditas dan mortalitas pada anak-anak yang disebabkan oleh penyakit diare, sekitar 10% diare terjadi pada anak usia balita di seluruh dunia merupakan diare berdarah atau disentri. Disentri adalah salah satu jenis penyakit diare akut disertai dengan tinja cair yang bercampur dengan darah dan lendir yang disebabkan oleh bakteri penyebab disentri telah menembus dinding kolon sehingga tinja yang melewati usus besar akan berjalan cepat tanpa diikuti proses absorbs air. (Adnyana *et al.*, 2004 dalam Munfaati *et al.*, 2015).

Diare atau disentri basiler berasal dari bakteri genus *Shigella* (Bangkele & Greis, 2015). *Shigella* spp. terbagi menjadi empat spesies: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, dan *Shigella sonnei* (Nafianti & Sinuhaji, 2005). *Shigella dysenteriae* dan *Shigella boydii* adalah penyebab utama disentri basiler di negara-negara berkembang dengan kondisi kebersihan dan sanitasi yang buruk (Prihantoro *et al.*, 2006). *Shigella dysenteriae* dapat menyebabkan infeksi dengan dosis yang lebih rendah dibandingkan dengan *E. coli*, yaitu  $10^3$  untuk *Shigella dysenteriae* dan  $10^6$ - $10^9$  untuk *E. coli*. Selain itu, *Shigella dysenteriae* mampu membentuk proteksi terhadap aktivitas antibiotik (Silviani & Utomo, 2017). *Shigella dysenteriae* adalah bakteri patogen usus yang bersifat gram negatif, berbentuk batang pendek, tidak berspora, tidak berflagel, memiliki kapsul, dan menghasilkan dua jenis toksin, yaitu endotoksin dan eksotoksin (Radji, 2009). Toksin shiga yang dihasilkan oleh *Shigella dysenteriae* menyebabkan kerusakan sel, dengan gejala sistemik seperti demam, nyeri perut, rasa lemah, feses berdarah, dan berlendir (Zein *et al.*, 2004).

Masyarakat Indonesia secara umum, menggunakan antibiotik sebagai pengobatan utama dalam mengobati diare (Sari *et al.*, 2018). Berdasarkan pedoman WHO 2005 ciprofloxacin direkomendasikan sebagai pengobatan pilihan pertama untuk shigellosis, sedangkan antimikroba pivmecillinam dan ceftriaxone digunakan apabila

strain lokal *Shigella* resisten terhadap ciprofloxacin (P. Williams & Berkley, 2016). Ciprofloxacin merupakan antibiotik dari golongan fluoroquinolone yang bekerja secara bakterisidal (Thai *et al.*, 2021). Antibiotik dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik yang menekan pertumbuhan bakteri dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri (Safitri, 2016). Akan tetapi penggunaan antibiotik secara besar-besaran adalah faktor utama terjadinya resisten, sehingga bakteri lebih berkembang ditubuh manusia. Resistensi terhadap antibiotik adalah perubahan kemampuan bakteri hingga menjadi kebal terhadap antibiotik. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik tidak akan terbunuh oleh antibiotik, lalu berkembang biak dan menyebar sehingga menjadi lebih berbahaya. Menurut Jawetz *et al.*, (1996) *Shigella dysenteriae* memiliki resistensi terhadap beberapa antibiotik diantaranya seperti tertasiklin, ampisilin, dan siprofloksasin. Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dan tidak tepat dosis akan mengganggu fungsi kinerja pada organ tubuh seperti ginjal, jantung dan hati (WHO, 2014). Seiring dengan meningkatnya resistensi bakteri, harus pula diimbangi dengan penemuan obat baru. Penggunaan obat tradisional sebagai salah satu solusi untuk mengurangi penggunaan obat-obatan kimia. Obat tradisional merupakan suatu obat yang diracik dari bahan-bahan alami seperti tumbuhan (Supiana, 2022). Allah berfirman dalam Q.S As-Syuara'7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah menunjukkan kekuasaannya melalui penciptaan tumbuh-tumbuhan dan tentunya memiliki banyak manfaat yang sangat berlimpah di alam semesta. Hal ini sesuai dengan tafsir al-Misbah terkait dengan ayat tersebut menjelaskan bahwa kata (إلى) pada lafad awalām yaraū ilā al-ard/ apakah mereka tidak melihat kebumi merupakan kata yang mengandung batas akhir. Ia berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir. Dengan demikian ayat ini, mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka tanah dan tumbuhannya

dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuhannya. Adapun kata (زَوْج) berarti pasangan. Pasangan yang dimaksud pada ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi. Dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuhan memiliki pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya. Ada tumbuhan yang memiliki benang sari dan putik sehingga menyatu diri pasangannya dan dalam penyerbukannya ia tidak membutuhkan pejantan dari bunga lain, dan ada juga yang hanya memiliki salah satunya saja sehingga membutuhkan pasangannya. Yang jelas setiap tumbuhan memiliki pasangannya dan itu dapat terlihat kapan saja dan siapa yang ingin menggunakan matanya. Karena itu ayat ini dimulai dengan pertanyaan apakah mereka tidak melihat, pertanyaan yang mengandung unsur keheranan terhadap mereka yang tidak memfungsikan matanya untuk melihat bukti yang sangat jelas itu. Pada kata (كريم) antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik paling tidak adalah subur dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah Swt. telah melimpahkan anugerah dan kasih sayang kepada sesama makhluk-Nya dengan menumbuhkan dan menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Salah satu tumbuhan yang baik adalah daun melinjo. Daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) sebagai salah satu tanaman yang di jadikan sebagai antibiotik penyebab diare. Daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan salah satu jenis tanaman berbiji terbuka (*Gymnospermae*), dimana dagingnya terbungkus oleh kulit luar.

Tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan komoditas pangan yang melimpah di Indonesia dan memiliki banyak manfaat bagi pengkonsumsinya mulai dari daun muda, bunga, biji, hingga kulitnya (Haryani *et al.*, 2016). Daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) memiliki kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, steroid dan tanin (Kining, 2015). Senyawa kimia seperti flavonoid dan tanin memiliki efek sebagai antibiotik (Noor & Apriasari, 2014). Menurut hasil analisis Lestari, dkk (2013) kandungan senyawa tanin daun melinjo adalah 4.55%. Menurut Andasari

(2020), ekstrak etanol daun melinjo mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, sementara ekstrak airnya memiliki alkaloid, steroid, tanin, dan saponin yang bersifat antibiotik (Kining *et al.*, 2022). Penelitian Tarigan *et al.*, (2019) juga mengidentifikasi adanya metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan triterpenoid dalam daun melinjo yang berpotensi sebagai antibiotik. Triterpenoid sendiri merupakan senyawa dengan kerangka karbon yang terbentuk dari enam unit isoprene (2-metilbuta-1,3-diena) dengan hidrokarbon C30 asiklik, yaitu skualena sebagai prekursor. Senyawa ini memiliki berbagai aktivitas farmakologis yang penting termasuk antivirus, antibiotik, antiinflamasi, penghambatan sintesis kolesterol serta antikanker (Balafif *et al.*, 2013 dalam Hidayah *et al.*, 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Setiawan & Widianti, (2018) memperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) menunjukkan aktivitas antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Adanya zona hambat karena daun melinjo memiliki kandungan senyawa antibiotik. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Nurrahmah, AN., (2021) ekstrak etanol daun melinjo dosis 600 mg/kgBB efektif sebagai antidiare. Ilodibia, (2015) pada penelitiannya menyatakan bahwa *Gnetum africanum* tanaman satu famili dengan *Gnetum gnemon* pada dosis ekstrak 150 g/100 mL mampu menghambat bakteri *Salmonella typhi* pada zona hambat maksimum 10,56 mm. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu bakteri yang digunakan yakni pada bakteri *Shigella dysenteriae*, dikarenakan bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri penyebab penyakit diare yang juga bisa menghasilkan shiga toksin yang mampu memberikan efek lebih parah dan berbahaya (Brener, 2007). *Shigella dysenteriae* menginfeksi saluran pencernaan manusia dan primata yang mengakibatkan gejala demam, kram perut, dan diare berair atau berdarah (Jalal *et al.*, 2022).

Senyawa bioaktif seperti fenolik dan flavonoid memiliki sifat polar, sehingga membutuhkan pelarut polar untuk diekstraksi (Handarni *et al.*, 2020). Dalam penelitian ini, etanol 70% digunakan karena sifat polaritasnya yang tinggi memungkinkan ekstraksi senyawa polar seperti flavonoid, saponin, dan tanin secara lebih optimal (Saputri *et al.*, 2019). Polaritas etanol 70% lebih besar dibandingkan etanol murni

(Tiwari *et al.*, 2011). Selain itu, etanol juga memiliki berbagai keunggulan seperti bersifat netral, tidak beracun, mudah bercampur dengan air, dan mampu menonaktifkan enzim-enzim yang dapat merusak metabolit sekunder (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

Pada penelitian Taroreh *et al.*, (2016), ekstrak daun melinjo memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan diameter zona hambat 10,6 mm. Penelitian sebelumnya telah dilakukan Kining pada tahun 2015 mengenai aktivitas antibakteri daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan zona hambat sebesar 11 mm (Kining, 2015). Penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak yang mengacu pada penelitian Setiawan dan Widiyanti, (2018) dan Muadifah *et al.*, (2019) dengan modifikasi yaitu 40%, 60%, 80%, dan 100%. Berdasarkan Muadifah *et al.*, (2019) konsentrasi yang digunakan untuk uji yaitu 50%, 60%, 70%, dan 80%. Ekstrak etanol daun melinjo pada konsentrasi 50% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat  $11,5 \pm 0,10$  dan zona hambat tertinggi terbentuk pada konsentrasi 80% yaitu  $13,1 \pm 0,28$ . Penelitian Syarifuddin *et al.*, (2023) menunjukkan ekstrak etanol daun melinjo konsentrasi 80% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan diameter zona hambat terbesar yaitu 12 mm. *Salmonella typhi* dan *Shigella dysenteriae* termasuk Enterobacteriaceae, patogen pencernaan manusia yang ditularkan fekal-oral, dengan kesamaan struktur genetik, patogenitas, dan induksi imun melalui lipopolisakarida (LPS) (Marlina *et al.*, 2010).

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi kertas cakram (Kirby-Bauer) dan microdilution test (uji KHM dan KBM) untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). *Shigella dysenteriae*, yang bersifat anaerobik fakultatif, diuji menggunakan metode difusi cakram karena sifat bakteri ini memungkinkan untuk hasil yang jelas dalam pengujian antibakteri (Jalal *et al.*, 2022). KHM diukur berdasarkan kekeruhan atau kejernihan larutan, sedangkan KBM ditentukan dengan menggoreskan konsentrasi ekstrak pada media agar (Munira & Nasir, 2023). Pengujian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antibakteri ekstrak daun melinjo terhadap *Shigella dysenteriae*, mengingat kandungan senyawa aktif daun melinjo yang berpotensi menghambat atau membunuh bakteri penyebab infeksi

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan Masalah ini ialah:

1. Bagaimana aktivitas antibiotik ekstrak etanol 70% daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*?
2. Berapakah nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak etanol 70% daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini ialah:

1. Untuk mengetahui aktivitas antibiotik dari ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dalam membunuh bakteri *Shigella dysenteriae*
2. Untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini ialah:

1. Ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) memiliki aktivitas antibiotik terhadap *Shigella dysenteriae*
2. Ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Shigella dysenteriae*

## 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini ialah:

1. Bagi peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sarana dalam menambah wawasan dan pengetahuan, serta pengalaman dalam melakukan penelitian mengenai ekstrak

daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*

## 2. Bagi Pendidikan

Memberikan informasi berupa data ilmiah secara mikrobiologi mengenai aktivitas antibiotik ekstrak daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.), sehingga dapat dilakukan penelitian lebih lanjut

## 3. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi para pembaca untuk menambah wawasan dan informasi lanjutan yang berhubungan dengan adanya daya antibiotik suatu tanaman khususnya daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang dapat digunakan sebagai antidiare.

### **1.6 Batasan Masalah**

Batasan masalah penelitian ini ialah:

1. Sampel tumbuhan yang digunakan yaitu daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) diambil dari Desa Purworejo, Kecamatan Donomulyo, Kabupaten Malang, Jawa Timur
2. Isolat mikroba yang digunakan adalah *Shigella dysenteriae* diperoleh dari laboratorium Agavi (online)
3. Ekstraksi metabolit sekunder menggunakan metode maserasi dengan pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%
4. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibiotik dengan menggunakan dua metode difusi cakram (diameter zona hambat) dan metode *Microdilution Test* (uji KHM dan uji KBM). Uji KHM dilihat dari Tingkat kekeruhan dari setiap perlakuan. Uji KBM dilakukan untuk konfirmasi jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada cawan petri (*Total Plate Count*).

5. Konsentrasi ekstrak daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang digunakan untuk uji aktivitas antibiotik dengan metode difusi cakram yaitu 40%, 60%, 80%, dan 100% sebanyak tiga kali ulangan.
6. Konsentrasi ekstrak daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang digunakan untuk uji aktivitas antibiotik dengan metode Microdilution Test (uji KHM dan uji KBM) 60%, 30%, 15%, 7,5%

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)**

##### **2.1.1 Morfologi dan Taksonomi**

Tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.) adalah salah satu anggota tumbuhan dalam divisi *spermatophyta* yang tersebar luas di Pulau Jawa. Morfologi melinjo, seperti yang dapat dilihat pada (Gambar 2.1), mencakup bentuk pohon yang ramping, sistem reproduksi yang bersifat uniseks dan terpisah pada individu pohon yang berbeda, batang yang tegak dengan tinggi mencapai (5-10) m, serta kulit batang berwarna kelabu dengan pola gelang yang khas dan terlihat jelas. Cabang melinjo bervariasi dalam ukuran dan tersebar secara melingkar di sepanjang batang hingga ke pangkalnya. Daun melinjo memiliki penempatan yang berhadapan dengan bentuk jorong yang lebar dengan ukuran (4-7) cm dan panjang (10-20) cm, berwarna hijau gelap yang mengkilap. Tulang daun melinjo melengkung dan bersatu di ujungnya. Biji melinjo berbentuk ellipsoid, memiliki kulit tipis, dengan panjang (1-3,5) cm sedangkan lebar bijinya setengah dari panjangnya. Perubahan warna biji terjadi dari hijau, hijau kekuningan, kuning kehijauan, kuning, kuning kemerahan, hingga merah (Rahardja, 2002).

Melinjo memiliki kemampuan untuk berkembang subur di wilayah tropis, baik yang memiliki iklim kering maupun lembab, pada ketinggian (0-1200 mdpl). Tumbuhan ini mengalami pertumbuhan optimal pada daerah yang menerima curah hujan antara (3000-5000) mm per tahun, namun juga dapat bertahan hidup dalam kondisi curah hujan yang lebih rendah, yakni (750-7000) mm per tahun (Cadiz and Florido, 2001; Lim, 2012). Melinjo tidak bergantung pada tanah yang kaya akan unsur hara atau iklim tertentu untuk pertumbuhannya (Mulyanto, 1995; Tampubolon, 2013). Tanaman ini dapat tumbuh di berbagai jenis tanah, termasuk yang berpasir, liat, maupun berkapur, namun akan lebih subur jika ditanam di tanah yang relatif netral dengan curah hujan yang mencukupi (Rahayu & Rahmawati, 2021).

Tanaman melinjo memiliki dua jenis bunga, yaitu bunga jantan dan bunga betina. Bunga jantan ditandai dengan bulir bunga yang lebih kecil, sementara bulir bunga betina memiliki tonjolan bakal biji. Strobilus jantan pada tanaman melinjo mengandung banyak tepung sari yang dapat menyerbuki tanaman betina melalui bantuan angin atau serangga. Meskipun termasuk dalam golongan tanaman berumah satu, di Jawa Tengah dan Jawa Barat ditemukan tanaman melinjo hermaphrodit atau memiliki dua alat reproduksi (strobilus) dalam satu pohon, yaitu jantan dan betina. Pohon jantan dan betina dapat dibedakan berdasarkan jenis strobilus yang tumbuh dan juga dari perbedaan daunnya. Daun pada tanaman betina memiliki pangkal bundar dan lebih lebar daripada tanaman jantan (Sunarto, 1991).

Klasifikasi tanaman melinjo menurut (Baloch, 2011) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Filum : Tracheophyta  
Kelas : Gnetopsida  
Ordo : Gnetales  
Famili : Gnetaceae  
Genus : Gnetum  
Species : *Gnetum gnemon* Linn.



**Gambar 2.1** (a) Tumbuhan melinjo (*Gnetum gnemon* L.), (b) Morfologi daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) (dokument pribadi)

### 2.1.2 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Al-Qur'an

Allah SWT berfirman dalam QS. Ali Imran 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا  
بِاطِلًا ۗ سُبْحَانَكَ قَوْلًا عَذَابَ النَّارِ ۙ ١٩١

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri. Duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “**Ya Tuhan kami, tidaklah engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka**”

Ayat tersebut menyiratkan bahwa Tuhan telah menciptakan segala sesuatu yang ada di planet ini dengan tujuan yang bijaksana, yang dapat dihargai oleh individu yang mempertimbangkan secara mendalam. Contoh nyata dapat ditemukan dalam ragam tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki manfaat yang signifikan bagi manusia. Ragam tumbuhan yang ditanamkan oleh Tuhan di bumi, sebagaimana yang diungkapkan dalam Al-Qur'an Surat An-Naba ayat 14-16:

وَأَنْزَلْنَا مِنَ الْمُعْصِرَاتِ مَاءً ثَجَّاجًا ۚ لِنُخْرِجَ بِهِ حَبًّا وَنَبَاتًا ۙ وَجَنَّاتٍ أَلْفَافًا ۙ

Artinya: “dan kami turunkan dari awan, air hujan yang tercurah dengan hebatnya, untuk **Kami tumbuhkan dengan air itu biji-bijian dan tanam-tanaman, dan kebun yang rindang**”

Allah menurunkan hujan dari awan yang memberikan manfaat, terutama dalam mendukung pertumbuhan tanaman yang memberikan manfaat bagi manusia. Dalam ayat ini, Allah menyebutkan berbagai jenis tumbuhan yang tumbuh di bumi, termasuk yang memiliki batang dan yang tidak. Beberapa di antaranya menghasilkan biji-bijian yang menjadi bahan makanan manusia (Kemenag, 2021). Salah satu kegunaan dari tumbuhan adalah eksploitasi bagian-bagian tertentu dari tanaman sebagai obat, seperti bagian daun pada tanaman Melinjo. Rasulullah SAW bersabda:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهَلَهُ مَنْ جَهَلَهُ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidak menurunkan penyakit kecuali menurunkan pula obatnya. Ada yang tahu, dan ada juga yang tidak tahu*” (H.R. Ahmad, *shahih*).

### 2.1.3 Kandungan Fitokimia Tanaman Melinjo (*Gnetum gnemon L.*)

Fitokimia adalah cabang ilmu yang mengkaji karakteristik serta relasi antar senyawa kimia yang merupakan hasil metabolit sekunder dalam tumbuhan (Julianto, 2019). Metabolit sekunder dalam tumbuhan menunjukkan spesifisitas fungsional yang tinggi. Proses biosintesis metabolit sekunder terjadi secara merata di seluruh organ tumbuhan (Anggraito *et al.*, 2018). Senyawa metabolit sekunder merupakan sumber alami zat kimia yang dapat dijumpai di alam dan memiliki potensi dalam pengembangan obat-obatan, pestisida, serta agen antibiotik terhadap patogen (Darminto *et al.*, 2009). Hasil analisis fitokimia ekstrak daun melinjo yang dilakukan oleh Andasari *et al.*, (2020) ditemukan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin. Senyawa bioaktif yang memiliki sifat sebagai agen antibiotik meliputi tannin, triterpenoid, saponin, dan flavonoid, terutama quercetin (Handarni *et al.*, 2020; Kamath *et al.*, 2008).

**Tabel 2.1** Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) Dengan Metode Maserasi Dan Sokletasi

Pengujian	Perubahan Warna	Hasil Skrining	
		Maserasi	Sokletasi
Flavonoid	Merah, kuning hingga jingga	++++	++++
Alkaloid	Endapan jingga-merah coklat	++++	++++
Tanin	Hijau kehitaman	++++	++++
Saponin	Adanya buih	+++	++

Sumber: Andasari *et al.*, (2020)

Keterangan: ++++ = tinggi, +++ = sedang, ++ = rendah

Flavonoid adalah sekelompok senyawa polifenol yang sering dijumpai dalam tumbuhan (Zhang *et al.*, 2014). Struktur dasar flavonoid terdiri dari kerangka bifenil propane, yang terdiri dari dua cincin benzene (cincin A dan cincin B) yang terhubung oleh tiga rantai karbon membentuk cincin heterosiklik dengan kandungan oksigen (cincin C) (Biharee *et al.*, 2020) (Gambar 2.2). Flavonoid memiliki beberapa subdivisi yang termasuk chalcones, flavones, flavonol, dan isoflavon (Panche *et al.*, 2016). Flavonoid yang ditemukan dalam daun melinjo berpotensi sebagai antibiotik dengan merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom melalui interaksi dengan DNA bakteri, yang mengakibatkan kematian bakteri (Puspitasari *et al.*, 2023).

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk mengganggu sel bakteri dan mengubah struktur protein, yang mengakibatkan penghambatan pertumbuhan bakteri (Handarni *et al.*, 2020). Aktivitas antibiotik flavonoid terjadi melalui tiga mekanisme, yaitu pembunuhan bakteri, peningkatan kerja antibiotik secara bersinergi, dan penurunan patogenitas bakteri. Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sel, dan metabolisme energi. Cincin B dalam struktur senyawa flavonoid berperan dalam interaksi interkalasi atau pembentukan ikatan hidrogen dengan asam basa nukleat, yang mengakibatkan penghambatan sintesis DNA dan RNA (Xie *et al.*, 2015). Gangguan pada fungsi membran sel oleh flavonoid terjadi melalui pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler yang larut, yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Rahman *et al.*, 2017).

Tanin adalah senyawa fenolik yang memiliki karakteristik rasa pahit dan astringen, yang mampu berinteraksi dengan protein serta senyawa organik lain yang mengandung asam amino (Julianto, 2019). Penelitian Noor & Apriasari, 2014 menunjukkan bahwa tanin memiliki efek sebagai antibiotik dalam daun melinjo. Menurut hasil analisis Lestari *et al.*, (2013) kandungan senyawa tanin daun melinjo adalah 4.55%. Menurut Cowan (1999), tanin berfungsi sebagai agen antibiotik melalui mekanisme kerusakan dinding sel. Kerusakan tersebut mungkin terjadi karena akumulasi komponen lipofilik yang terdapat dalam dinding sel atau membran sel, yang mengakibatkan perubahan dalam komposisi penyusun dinding sel.

Gugus fenol pada tannin berperan sebagai agen antibiotik karena memiliki sifat yang mirip dengan alkohol antiseptik yang menjadi komponen antimikroba. Penelitian awal yang dilakukan oleh Mailoa *et al.* (2014) menunjukkan bahwa bakteri gram-negatif menunjukkan zona hambat yang lebih besar dengan konsentrasi ekstrak tannin yang rendah dibandingkan dengan bakteri gram-positif. Perbedaan ini terjadi karena dinding sel bakteri gram-negatif cenderung lebih tipis daripada bakteri gram-positif. Dinding sel bakteri gram-negatif memiliki ketebalan sekitar 10-15 nm dan terdiri dari tiga lapisan, yaitu mukopeptida, lipopolisakarida, dan lipoprotein, sedangkan dinding sel bakteri gram-positif terutama terdiri dari peptidoglikan mukopeptida dengan ketebalan sekitar 25-30 nm.

Senyawa tannin dan gugus protein pada sel bakteri berinteraksi melalui pembentukan ikatan hidrogen (Gambar 2.3). Pembentukan ikatan hidrogen antara tannin dan protein ini menghasilkan denaturasi protein, yang mengakibatkan gangguan pada metabolisme sel bakteri. Tannin menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak membran plasma sel, yang terdiri dari 60% protein dan 40% lipid (dalam bentuk fosfolipid). Di dalam membran sel, tannin bereaksi dengan membentuk ikatan hidrogen, serta berinteraksi dengan fosfolipid, yang menyebabkan kerusakan pada membran sel dan menyebabkan kebocoran metabolit penting serta menonaktifkan sistem enzim bakteri (Mailoa *et al.*, 2014).

Saponin adalah glikosida sterol yang mampu meningkatkan permeabilitas membran, menyebabkan kerusakan pada sel. Aktivitas antibiotik saponin terjadi dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri (Sapara & Waworuntu, 2016). Saponin telah digunakan dalam bidang kesehatan, terutama sebagai obat, dan memiliki sifat fisik, sintetik, dan organik yang sangat spesifik (Handarni *et al.*, 2020). Struktur kimia saponin dapat dilihat pada Gambar 2.4

Alkaloid merupakan senyawa aktif yang mengandung atom nitrogen dalam rangkaian basa heterosiklik (Gambar 2.5) (Yuslianti, 2018). Sebagai agen antibiotik, alkaloid menghambat sintesis dinding sel, khususnya pembentukan peptidoglikan, yang menginduksi lisis sel dan mengakibatkan kematian (Dwicahyani *et al.*, 2018; D.

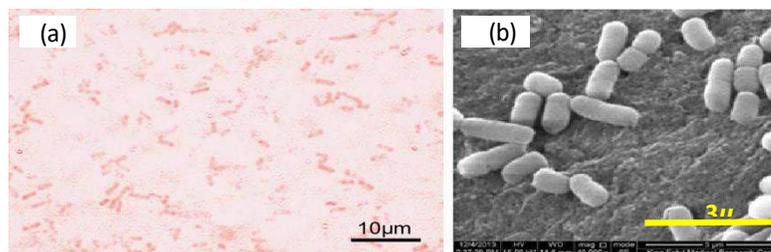
Pratiwi *et al.*, 2013). Alkaloid juga memiliki sifat sebagai interkalator DNA dan menghambat aktivitas enzim topoisomerase dalam mikroba (Saputri *et al.*, 2019).

## 2.2 *Shigella dysenteriae*

### 2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Bakteri *Shigella dysenteriae*

*Shigella* adalah bakteri gram-negatif berbentuk batang, tidak memiliki flagela, tidak membentuk spora, dan memiliki sifat aerobik atau anaerobik fakultatif. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C, membentuk koloni berbentuk cembung dan transparan dengan tepi yang rata, dengan diameter sekitar 2 mm dalam rentang waktu 24 jam (Aini, 2018; Carroll *et al.*, 2016). *Shigella* termasuk dalam keluarga Enterobacteriaceae, yang terdiri dari empat spesies utama, yakni *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, dan *Shigella sonnei* (Williams & Berkley, 2018).

*Shigella* mampu mengfermentasi berbagai jenis karbohidrat kecuali laktosa, dan hasil fermentasinya adalah asam tanpa produksi gas (Radji, 2009). *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri patogen usus yang bersifat gram-negatif, memiliki dimensi sekitar 0,5-0,7 µm x 2-3 µm, berbentuk batang pendek, tidak membentuk spora, tidak memiliki flagela, mungkin memiliki kapsul, dan menghasilkan dua jenis toksin, yaitu endotoksin dan eksotoksin (Gambar 2.2). *S. dysenteriae* merupakan penyebab disentri yang sangat serius karena produksi endotoksinnya dapat menyebabkan epidemi yang parah, terutama di daerah tropis dan subtropis (M. Azizah & Ekawati, 2017). Suhu optimal pertumbuhan *S. dysenteriae* adalah 37°C dan pH optimalnya berkisar antara 6,4 hingga 7,8 (Radji, 2009). Menurut Plantamor (2017), klasifikasi *Shigella dysenteriae* adalah sebagai berikut:



**Gambar 2.2** Bakteri *Shigella dysenteriae*, (a.) Perbesaran 1000x (mikroskop cahaya), (b). perbesaran 40000x (mikroskop electron). (Judaibi, 2014).

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Shigella
Spesies	: <i>Shigella dysenteriae</i> (Plantamor, 2017)

Ketahanan *S. dysenteriae* terhadap berbagai zat kimia tergolong rendah, dengan kemampuan bertahan hidup selama 5 jam dalam fenol 0,5% dan selama 1 jam dalam fenol 1%, serta mengalami kematian pada suhu 55°C. Namun, bakteri ini memiliki kemampuan bertahan dalam kondisi suhu dan kelembaban yang rendah, yakni selama 2 bulan dalam lemari es dan 2-5 bulan dalam air laut (Radji, 2009).

### 2.2.2 Struktur Antigen Bakteri *Shigella dysenteriae*

*Shigella* memiliki pola antigen yang kompleks yang disebut antigen O somatik. Antigen O somatik ini terdiri dari lipopolisakarida, dengan spesifisitas serologisnya ditentukan oleh polisakarida. Terdapat lebih dari 40 serotipe yang dapat dibedakan berdasarkan komponen minor antigen O (Riedel *et al.*, 2019). *Shigella dysenteriae*, misalnya, memiliki 10 serotipe yang berbeda (Radji, 2009). Berdasarkan karakteristik biokimia dan antigen, *Shigella* dibagi menjadi empat serogrup: *S. dysenteriae* (grup A), *S. flexneri* (grup B), *S. boydii* (grup C), dan *S. sonnei* (grup D). Antigen O merupakan bagian terluar dari lipopolisakarida dinding sel, yang bersifat alkohol dan tahan panas, dan dapat dideteksi melalui aglutinasi bakteri. IgM merupakan antibodi utama yang merespons antigen O (Riedel *et al.*, 2019).

### 2.2.3 Toksin yang Dihasilkan Bakteri *Shigella dysenteriae*

*Shigella dysenteriae* menghasilkan dua jenis toksin, yaitu endotoksin dan eksotoksin (Silviani & Utomo, 2017). Setelah autolisis, semua *Shigella* melepaskan lipopolisakarida toksik yang berkontribusi pada iritasi dinding usus. Protein antigenik yang memicu produksi antitoksin dan memiliki efek letal pada hewan percobaan disebut eksotosin. Eksotosin yang dihasilkan oleh *Shigella dysenteriae* adalah jenis

yang tidak tahan panas dan memiliki dampak pada usus serta sistem saraf pusat (Carroll *et al.*, 2016). Eksotosin ini terdiri dari enterotoksin, neurotoksin, dan sitotoksin (Radji, 2009). Enterotoksin LT (termolabil) yang dihasilkan oleh bakteri *S. dysenteriae* dapat menyerang kolon. Enterotoksin ini merangsang sekresi enzim adenilat siklase pada mukosa ileum, yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas epitel usus dan akumulasi cairan di dalam usus. Inilah yang menyebabkan diare berair (watery diarrhea). Toksin ini menembus usus besar dan menyebabkan disentri (Radji, 2009).

Neurotoksin menyebabkan rasa sakit yang parah, dan infeksi oleh *S. dysenteriae* yang bersifat fatal diamati dari respons yang terjadi pada susunan saraf pusat (contohnya, meningismus, koma) (Carroll *et al.*, 2016). Sitotoksin yang dihasilkan oleh *S. dysenteriae* adalah suatu protein yang sangat poten yang dikenal sebagai toksin Shiga, yang terdiri dari dua subunit struktural, yaitu subunit fungsional dan subunit pengikat. Subunit fungsional, yang terdapat dalam sitoplasma, berperan dalam katalisis dan hidrolisis RNA 28S dari subunit 60S ribosom, menghentikan sintesis protein, dan menyebabkan kematian sel. Sementara itu, subunit pengikat adalah glikolipid Gb3 (globotriaosylceramide) yang berfungsi sebagai reseptor seluler spesifik. Ikatan ini kemudian memicu aktivasi mediator reseptor endositosis dari toksin yang dihasilkan (Nafianti & Sinuhaji, 2005).

## **2.3 Disentri Basiler**

### **2.3.1 Definisi**

Disentri basiler merupakan suatu kondisi infeksi usus besar yang disebabkan oleh bakteri *Shigella*. Manifestasi klinisnya meliputi diare akut yang cair (tinja dengan campuran darah, lendir, dan nanah), sering disertai dengan demam, nyeri perut, dan tenesmus (Bangkele & Greis, 2015).

### **2.3.2 Epidemiologi**

Menurut laporan epidemiologi, setiap tahunnya terdapat 600 ribu kematian dari total 140 juta pasien shigellosis di seluruh dunia (Bangkele & Greis, 2015). Pada tahun 2010, terdapat sekitar 188 juta kasus shigellosis secara global, termasuk 62,3 juta kasus pada anak-anak yang berusia di bawah 5 tahun (Kotloff *et al.*, 2017). Prevalensi

tertinggi shigellosis terjadi pada balita, mencapai 16,7% (Wulandari *et al.*, 2012). Disentri basiler menyebabkan 29% kematian pada kelompok umur 1-4 tahun (Bangkele & Greis, 2015). Melalui analisis molekuler kuantitatif yang dilakukan oleh Global Enteric Multicentre Study (GEMS) pada tahun 2016, teridentifikasi peningkatan beban Shigellosis, dan dilaporkan sebagai patogen utama dari enam patogen lain yang menjadi penyebab diare pada anak-anak (P. Williams & Berkley, 2016).

*Shigella dysenteriae* banyak ditemukan di wilayah Amerika Tengah dan Asia Timur, termasuk di Indonesia. Bakteri ini dapat menyebar melalui manusia, baik yang sedang terinfeksi maupun sebagai carrier (Radji, 2009). Penyebaran *Shigella* dapat terjadi melalui makanan dan minuman, kontak langsung dengan jari atau tangan yang kotor, tinja, dan melalui alat yang berpindah dari satu manusia ke manusia lainnya (Carroll *et al.*, 2016). Di Indonesia, infeksi shigellosis telah menjadi endemik, dengan anak-anak usia 1-4 tahun sebagai kelompok yang paling rentan terinfeksi (Radji, 2009).

### **2.3.3 Patogenesis dan Patologi**

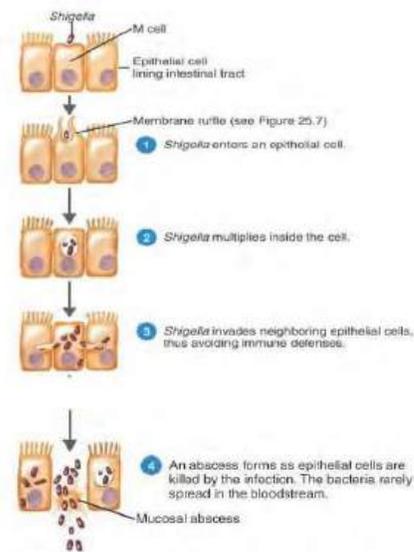
Infeksi *Shigella* umumnya terbatas pada saluran pencernaan, jarang terjadi invasi ke dalam aliran darah. Penularan *Shigella* terjadi pada dosis infeksi sekitar 10<sup>3</sup> organisme, melalui berbagai mekanisme seperti feses/oral, kontak antar manusia, air yang terkontaminasi, atau benda mati yang telah terpapar oleh *Shigella* dengan jumlah minimal sekitar 10-100 organisme. Setelah terjadi infeksi, spesies *Shigella* akan berkembang biak dan menyebabkan diare akut yang disertai perdarahan, dengan menyerang epitel usus besar. Proses ini memicu pelepasan sitokin proinflamasi dan menginduksi reaksi inflamasi, yang mengakibatkan infiltrasi sel polimorfonuklear dan kerusakan pada sel epitel yang melapisi mukosa usus, sehingga memungkinkan invasi langsung oleh *Shigella* (Carroll *et al.*, 2016; Williams & Berkley, 2018).

*Shigella dysenteriae* memiliki kemampuan invasi yang memungkinkannya menembus ke dalam sel-sel epitel mukosa usus pada bagian ileum terminal dan kolon. Setelahnya, *S. dysenteriae* berkembang biak, menyebabkan pengelupasan lapisan sel mati, yang pada gilirannya menyebabkan kerusakan pada mukosa usus. Reaksi infeksi ini sering kali diikuti oleh gejala demam (Radji, 2009). Proses invasi sel epitel mukosa,

seperti sel M, dipicu oleh fagositosis, diikuti dengan pelepasan dari vakuola fagositik, perkembangan dalam sitoplasma, dan penyebaran ke sel-sel mukosa yang berdekatan. Adanya mikroabses pada dinding ileum terminal dan kolon menyebabkan nekrosis pada selaput lendir, ulserasi permukaan, perdarahan, serta pembentukan pseudomembran di area ulserasi yang terdiri atas fibrin, leukosit, sisa-sisa sel, membran mukosa nekrotik, dan bakteri. Ketika penyakit mereda, jaringan granulasi akan mengalami transformasi menjadi luka dan menghasilkan jaringan parut (Carroll *et al.*, 2016) (Gambar 2.3).

*Shigella* memiliki kemampuan untuk bertahan dalam lingkungan asam lambung dan mikrobiota usus sehingga dapat mencapai ileum terminal, usus besar, dan rektum, di mana bakteri ini dapat menembus lapisan mukosa. *Shigella* menggunakan berbagai protein efektor bakteri untuk melakukan serangan, replikasi, dan penyebaran ke seluruh epitel usus. Contohnya, protein-protein seperti IpaA-IpaD digunakan untuk menyerang, sementara VirG/IcsA berperan dalam mereplikasi dan menyebar ke seluruh epitel usus. Protein-protein ini diinjeksikan langsung ke dalam sitosol sel inang oleh sistem sekresi tipe III (Kotloff *et al.*, 2017). *Shigella* secara spesifik menempel pada sel M dan kemudian mengalami transcytosis ke dalam makrofag. Di dalam makrofag, *Shigella* berpindah dari fagosom menuju sitoplasma dan memicu sinyal kematian sel (apoptosis) (Ryan, 2018). Setelah menyebabkan kematian makrofag dan menembus sel epitel sekitarnya, *Shigella* melakukan replikasi dan menyebar ke seluruh mukosa dengan menginduksi restrukturisasi sitoskeleton, polimerisasi aktin, dan perubahan lainnya pada sel epitel (Kotloff *et al.*, 2017; Ryan, 2018).

Respon imun dari inang meliputi pengaktifan neutrofil dan pelepasan sitokin inflamasi, yang pada akhirnya membantu mengatasi infeksi dan menyebabkan pembentukan abses epitel, ulserasi, dan kerusakan. Kemampuan *Shigella* untuk bertahan hidup di dalam sel dan menghindari fagositosis bergantung pada efektor yang menekan respons inflamasi dengan menghambat jalur sinyal pro-inflamasi pada sel inang serta produksi sitokin, sekaligus mengurangi aktivitas sel-B dan sel-T (Kotloff *et al.*, 2017).



**Gambar 2.3.** proses infeksi dinding usus oleh *Shigella dysenteriae*. Bakteri menempel pada sel M dari dinding epitel yang terletak di atas patch peyer, dan merupakan daerah yang diadaptasi untuk memfasilitasi transfer antigen melintasi mukosa usus (Tortora *et al.*, 2010).

### 2.3.4 Tanda Klinis Penderita Disentri

Gejala klinis ditandai dengan infeksi usus akut atau radang usus yang disertai dengan diare, feses bercampur darah, lendir, dan nanah. Sigmoidosis memiliki masa inkubasi selama 1-7 hari (umumnya 4 hari) (Radji, 2009). Terjadinya diare diakibatkan oleh pengaruh eksotoksin dalam usus kecil. Jika infeksi sudah mencapai usus bawah dan usus besar, tinja semakin banyak disertai lendir dan darah dengan cairan yang sedikit. Dalam 2-5 hari demam dan diare reda secara spontan. Kehilangan air dan elektrolit pada penderita sigmoidosis dapat menyebabkan dehidrasi, acidosis, dan mungkin kematian (Carroll *et al.*, 2016)

### 2.3.5 Pencegahan dan pengobatan Disentri

Pencegahan infeksi sigmoidosis dilakukan dengan beberapa cara sebagai berikut: (1) menjaga kebersihan lingkungan, (2) menjaga kebersihan makanan dan minuman, (3) melindungi makanan dan minuman dari pencemar seperti lalat, (4) melakukan klorinasi air minum, (5) membuang dan mengolah limbah dengan memperhatikan sanitasi lingkungan (Radji, 2009). Ketika manusia menjadi host pathogenic shigella,

kontrol diarahkan untuk pengurangan organisme dengan cara sebagai berikut: (1) kontrol sanitasi air, makanan, dan pembuangan sampah, (2) desinfektan dan pengisolasian pasien, (3) pendeteksian penyebab dan kasus subklinis, (4) pengobatan dengan antibiotik pada penderita sigelosis (Carroll *et al.*, 2016).

Pengobatan sigelosis dilakukan dengan pemberian antibiotik, seperti ciprofloxacin, ampicilin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, dan chloramphanecol yang dapat menghambat shigella dan menekan invasi disentri akut serta memperpendek jangka waktu gejala (Carroll *et al.*, 2016). WHO merekomendasikan ciprofloxacin sebagai pilihan pertama untuk mengobati disentri pada anak-anak dan orang dewasa, azitromisin, ceftriaxone, dan pivmecilinam sebagai pengobatan lini kedua (Kotloff *et al.*, 2017).

## **2.4 Antimikroba**

### **2.4.1 Aktivitas Antimikroba**

Antimikroba merupakan bahan kimia yang digunakan untuk mengobati penyakit menular dengan menghambat atau membunuh patogen *in vivo* (Engelkirk & Duben-Engelkrik, 2011). Antimikroba sintetik diperoleh di laboratorium dari senyawa organik lainnya melalui reaksi kimia (Talaro & Chess, 2002). Antimikroba yang digunakan dalam pengobatan penyakit yang diakibatkan oleh bakteri patogen disebut antibiotik. Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme (jamur dan bakteri tertentu) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain (Engelkirk & Duben- Engelkrik, 2011). Secara terapeutik, antibiotik menyerang organisme infeksius dan membunuh bakteri lain yang tidak menyebabkan penyakit. Antibiotik dibagi menjadi dua golongan, yaitu bakteriostatik dan bakterisidal (Amin, 2014).

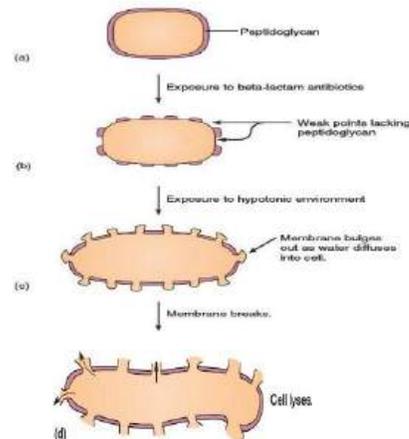
Bakteriostatik merupakan aktivitas antibiotik menghambat perkembangan bakteri. Contoh antibiotik yang bersifat bakteriostatik yaitu tetrasiklin, chloramphenicol, clindamycin, ethambutol, macrolide, trimethoprim, dan sulfonamide. Bakterisidal merupakan antibiotik yang mampu membunuh bakteri dengan menghambat pembentukan dinding sel dan bersifat toksin terhadap sel bakteri. Contoh

antibiotik yang bersifat bakterisidal adalah penisilin,  $\beta$ -lactam, metronidazole, aminoglycoside, dan kuinolon (Amin, 2014; R. H. Pratiwi, 2017).

Lingkup mikroorganisme yang dipengaruhi oleh aktivitas antibiotik disebut dengan spektrum kerja antibiotik. Spektrum antibiotik dibedakan menjadi tiga yaitu, spektrum luas, spektrum sempit, dan spektrum terbatas. Antibiotik dikatakan berspektrum luas apabila efektif melawan prokariota, membunuh atau menghambat berbagai bakteri gram positif maupun gram negatif. Antibiotik yang efektif hanya melawan bakteri gram positif atau gram negative saja dikatakan berspektrum sempit. Dikatakan berspektrum terbatas apabila efektif melawan organisme atau penyakit tunggal (Todar, 2005)

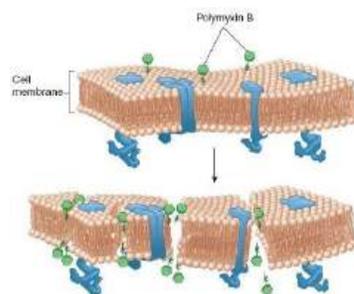
#### **2.4.2 Mekanisme kerja antimikroba**

Mekanisme kerja antimikroba melalui beberapa cara antara lain menghambat sintesis dinding sel, menghambat sintesis atau fungsi asam nukleat, menghambat sintesis protein, dan mengganggu fungsi membran sel (Talaro & Chess, 2002) (Gambar 2.7). Inhibitor sintesis dinding sel umumnya menghambat beberapa langkah sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri (Todar, 2005). Antibiotik dengan efek ini tergolong dalam bakterisidal karena menyebabkan sel bakteri lisis (Gambar 2.4). Contoh antibiotik yang memiliki mekanisme menghambat sintesis dinding sel adalah penicillin dan cephalosporins. Penicillin dan cephalosporins mengikat dan memblokir peptidase yang mengikat molekul glycan sehingga mengganggu sintesis dinding sel (Talaro & Chess, 2015).



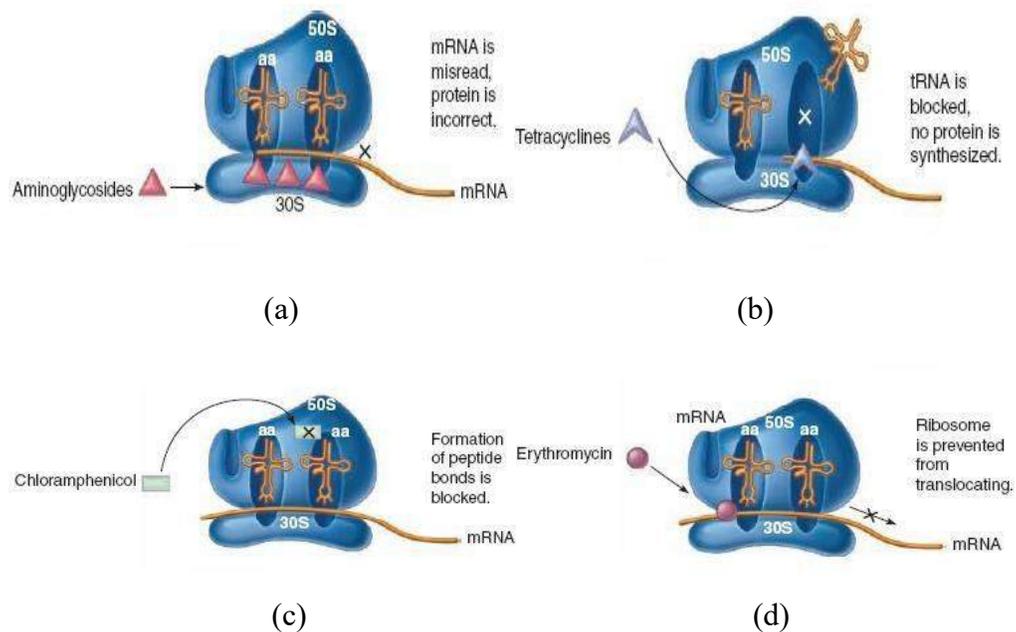
**Gambar 2.4** Penghambatan sintesis dinding sel (a) sel bakteri terpapar antibiotic B-lactam (cephalosporin), (b) peptidoglikan pada dinding sel bakteri berkurang sehingga terbentuk weak point (titik lemah), (c) sel bakteri yang melemah terpapar lingkungan hipotonik sehingga terbentuk tonjolan membrane ke luar dinding sel saat air berdifusi masuk dalam sel, (d) sel bakteri lisis (Talaro & Chess, 2002).

Inhibitor membran sel merusak struktur ataupun mengganggu fungsi membran sel. Integritas sitoplasma dan membrane luar sangat penting bagi bakteri, dan senyawa yang menghambat fungsi membran dapat dengan cepat membunuh sel. Antibiotik yang memiliki mekanisme menghambat fungsi membran sel adalah Polymyxin yang diproduksi oleh *Bacillus polymyxis* (Todar, 2005). Polymyxin berinteraksi dengan membrane fosfolipid menyebabkan kebocoran protein dan basa nitrogen, khususnya pada bakteri gram negatif (Gambar 2.5) (Talaro & Chess, 2015).



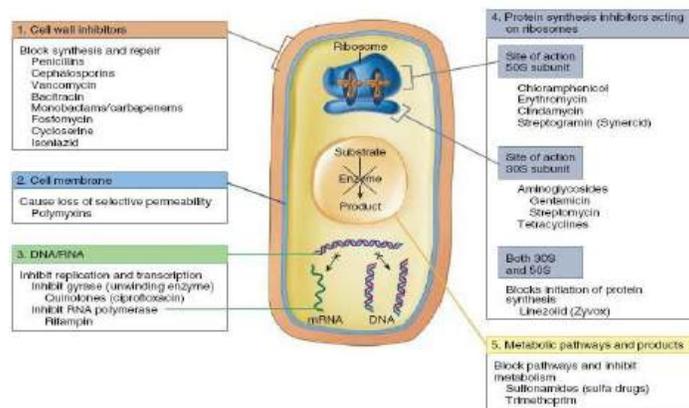
**Gambar 2.5.** Penghambatan Fungsi membran sel Polymyxin mengikat membrane sel luar dan membentuk bukaan abnormal yang menyebabkan kebocoran dan lisis (Talaro & Chess, 2015).

Penghambatan sintesis protein dilakukan dengan cara bereaksi dengan kompleks ribosom-mRNA sel bakteri. Target penghambatan dalam ribosom adalah subunit 30S dan subunit 50S (Talaro & Chess, 2015). Antibiotik yang mempunyai mekanisme menghentikan sintesis protein adalah tetrasiklin, kloramfenikol, makrolida (contohnya eritromisin), dan aminoglikosida (contohnya streptomisin) (Todar, 2005). Aminoglikosida masuk dalam subunit 30S yang menyebabkan kesalahan membaca mRNA sehingga menghasilkan protein abnormal. Tetrasiklin memblokir perlekatan tRNA pada aseptor A dan secara efektif menghentikan sintesis protein. Antibiotik kloramfenikol dan eritromisin menempel pada subunit 50S dan menghambat terbentuknya ikatan peptide (kloramfenikol) atau perpindahan subunit selama translasi (eritromisin) (Gambar 2.9) (Talaro & Chess, 2015).



**Gambar 2.6.** Penghambatan sintesis protein pada ribosom sel bakteri (a) Aminoglikosida masuk dalam subunit 30S menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA, (b) tetrasiklin melekat pada reseptor A sehingga menghentikan sintesis protein, (c) kloramfenikol menghambat terbentuknya ikatan peptida, (d) eritromisin menghambat proses translasi (Talaro & Chess, 2015).

Antibiotik menghambat sintesis asam nukleat dengan cara memblokir sintesis nukleotida, menghambat replikasi atau menghentikan transkripsi. Beberapa antimikroba menghambat sintesis DNA. Antibiotik quinolones menghambat enzim helikase yang melepas DNA sehingga replikasi dan perbaikan DNA (Talaro & Chess, 2015). Target utama quinolone adalah enzim DNA gyrase yang merupakan anggota kelas topoisomerase tipe II. Enzim ini diperlukan untuk replikasi DNA, transkripsi pada operon tertentu, perbaikan dan rekombinasi. Salah satu contoh antibiotik golongan quinolone adalah ciprofloxacin (Vance-Bryan *et al.*, 1990).



Gambar 2.7. Mekanisme kerja antibiotik pada sel bakteri (Talaro & Chess, 2015).

## 2.5 Uji Antimikroba

### 2.5.1 Metode Difusi Cakram

Difusi cakram merupakan metode pengujian aktivitas antimikroba yang sering digunakan pada laboratorium klinis. Keuntungan menggunakan metode difusi cakram adalah sederhana, biaya lebih rendah, mempunyai kemampuan menguji sebagian besar mikroorganisme dan agen antimikroba, serta hasil yang diperoleh mudah untuk dianalisis. Metode difusi cakram juga memiliki kelemahannya yaitu tidak dapat membedakan efek bakterisidal dan bakteriostatik dari suatu antimikroba, dan tidak tepat untuk menentukan nilai KHM karena tidak dapat menghitung jumlah agen antimikroba yang terdifusi ke dalam media agar (Balouiri *et al.*, 2016).

Prosedur yang dilakukan yaitu dengan inokulasi bakteri uji di atas media agar. Kertas cakram berdiameter 6 mm dimasukkan pada ekstrak lalu diletakkan di atas

permukaan media agar. Cawan petri diinkubasi pada suhu yang sesuai. Senyawa antibiotik berdifusi dalam media agar dan pertumbuhan bakteri uji terhambat, kemudian diameter zona hambat diukur (Balouiri *et al.*, 2016).

### **2.5.2 Metode Dilusi**

Metode dilusi adalah pilihan yang paling sesuai untuk menentukan nilai KHM dan KBM, karena metode ini mengestimasi konsentrasi agen antimikroba yang diuji dalam dua jenis dilusi, yaitu dilusi agar dan dilusi cair (makrodilusi dan mikrodilusi). KHM adalah tingkat konsentrasi terendah dari antimikroba yang mampu sepenuhnya menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji, yang diukur dalam mg/ml atau mg/L. Faktor-faktor seperti ukuran inokulum, jenis media pertumbuhan, dan persiapan inokulum dapat mempengaruhi nilai KHM. Di sisi lain, KBM adalah tingkat konsentrasi terendah dari antimikroba yang diperlukan untuk membunuh 99,9% dari inokulum akhir setelah mengalami inkubasi selama 24 jam (Balouiri *et al.*, 2016). Metode dilusi terdiri dari dua varian, yaitu dilusi cair dan dilusi agar (Pratiwi, 2008).

#### **2.5.2.1 Dilusi Cair**

Dilusi cair dilaksanakan dengan cara melakukan pengenceran dua kali pada senyawa antimikroba di dalam media cair, entah itu dalam tabung reaksi dengan minimal volume 1 ml (makrodilusi) atau melalui plat sumuran mikrotiter 96 (mikrodilusi) dengan volume yang lebih kecil. Kemudian, suspensi mikroba uji yang sudah disesuaikan dengan standar skala 0,5 Mc Farland ditanam pada setiap tabung atau sumuran. Inkubasi dilakukan pada suhu yang sesuai (optimum), dan nilai KHM, yang merupakan konsentrasi minimum dari zat antibiotik yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, ditentukan. Selanjutnya, setelah proses pengenceran (makrodilusi atau mikrodilusi), nilai KBM dapat ditetapkan dengan melakukan subkultur sampel dari sumur atau tabung (Balouiri *et al.*, 2016).

Proses penentuan KHM dilakukan dengan mengamati pertumbuhan mikroba uji dalam larutan antimikroba. Jika larutan antimikroba tersebut tampak jernih karena tidak ada pertumbuhan mikroba uji, maka kultur dilakukan pada media cair tanpa penambahan agen antimikroba maupun mikroba uji dan diinkubasi selama 18-24 jam. Apabila setelah inkubasi media tersebut terlihat jernih, maka dianggap sebagai KBM

(Pratiwi, 2008). Jumlah mikroba yang tumbuh setelah inkubasi dihitung dan dinyatakan dalam satuan CFU/ml (Balouiri *et al.*, 2016).

### **2.5.2.2 Dilusi Padat**

Metode dilusi agar dilakukan dengan mencampurkan berbagai konsentrasi yang diinginkan dari agen antimikroba ke dalam media agar-agar cair, biasanya menggunakan seri pengenceran dua kali. Kemudian, inokulum diinokulasikan ke permukaan media agar dan diinkubasi selama periode 24 jam (Balouiri *et al.*, 2016; Choma & Grzelak, 2011). Konsentrasi terendah dari agen antimikroba dapat diidentifikasi dengan ketiadaan pertumbuhan mikroorganisme uji (Choma & Grzelak, 2011). Metode dilusi agar sering direkomendasikan sebagai pendekatan standar untuk mikroorganisme anaerob dan genus *Helicobacter* (Balouiri *et al.*, 2016).

## **2.6 Metode Ekstraksi**

Ekstraksi adalah langkah awal yang dilakukan untuk memisahkan produk alami yang diinginkan dari bahan mentah. Terdapat berbagai macam metode ekstraksi seperti maserasi, distilasi, pengepresan dan sublimasi sesuai dengan prinsip ekstraksi (Zhang *et al.*, 2018). Maserasi merupakan metode sederhana yang banyak digunakan dengan merendam simplisia secara keseluruhan dalam pelarut (Handarni *et al.*, 2020). Tahapan maserasi meliputi perendaman bahan tanaman berbentuk simplisia dalam wadah tertutup dengan pelarut dan didiamkan pada suhu ruang dengan batas waktu minimum 3 hari. Perendaman bertujuan untuk melunakkan dan merusak dinding sel tumbuhan sehingga senyawa aktif yang ada dalam tumbuhan dilepaskan. Senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi dari tanaman ditentukan oleh pelarut yang digunakan (Nn, 2015). Maserasi memiliki kelebihan yaitu mampu menarik senyawa bioaktif yang tidak tahan panas, alat yang digunakan sederhana, dan mudah dilakukan (Wicaksono & Ulfah, 2017).

Senyawa bioaktif yang digunakan sebagai parameter (fenolik dan flavonoid) merupakan senyawa polar sehingga pelarut yang digunakan harus bersifat polar. Hal tersebut dikarenakan suatu senyawa hanya terlarut dalam pelarut yang mempunyai sifat yang sama. Contoh pelarut dengan sifat polar yaitu air, aseton, etanol, dan methanol. Kemampuan pelarut dalam mengekstrak senyawa bioaktif juga dipengaruhi oleh

konsentrasi dari pelarut (Handarni *et al.*, 2020). Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol lebih efektif dalam degradasi dinding sel sehingga polifenol mudah dilepaskan dari sel dan terlarut dalam pelarut. Etanol juga lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari tanaman (Tiwari *et al.*, 2011) dan dapat menarik zat aktif seperti flavonoid, glikosida, tannin, saponin, kumarin, antrakinon, dan alkaloid basa (Wicaksono & Ulfah, 2017).

Etanol juga memiliki beberapa keuntungan antara lain bersifat netral, tidak beracun, dapat bercampur dengan air, dan menetralkan enzim-enzim yang dapat merusak metabolit sekunder (Wicaksono & Ulfah, 2017). Konsentrasi pelarut etanol yang digunakan yaitu 70%. Etanol 70% mempunyai polaritas yang lebih tinggi dibandingkan dengan etanol murni. Dengan menambahkan air ke etanol murni hingga 30% untuk menyiapkan etanol 70%, polaritas pelarut meningkat (Tiwari *et al.*, 2011).

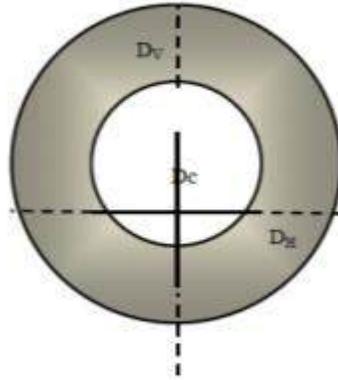
## **2.7 Daya Hambat Bakteri**

Kemampuan suatu senyawa aktif untuk menghambat pertumbuhan bakteri dapat diketahui melalui keberadaan zona hambat di sekitar cakram, yang menunjukkan bahwa bakteri yang diuji sensitif terhadap senyawa aktif tersebut (Waluyo, 2010). Ukuran zona hambat yang dihasilkan dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti sensitivitas organisme, pH, jenis mikroba, bahan antimikroba yang digunakan, medium kultur, kondisi inkubasi, serta kecepatan difusi agar. Kecepatan difusi agar sendiri dipengaruhi oleh konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu inkubasi, dan durasi inkubasi (Siregar *et al.*, 2012).

Suhu inkubasi juga merupakan faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal, inkubasi biasanya dilakukan pada suhu 35°C. Suhu yang lebih rendah dari 35°C dapat menyebabkan diameter zona hambat lebih besar, terutama jika plate ditumpuk lebih dari dua lapis selama inkubasi, di mana plate di tengah mungkin memiliki suhu di bawah 35°C. Sebaliknya, suhu inkubasi yang lebih tinggi dari 35°C dapat mengurangi efisiensi difusi ekstrak.

Selain itu, ketebalan media agar-agar juga berpengaruh terhadap diameter zona hambat. Ketebalan agar-agar yang ideal adalah sekitar 4 mm; jika kurang dari 4 mm,

difusi ekstrak akan lebih cepat, sedangkan jika lebih tebal dari 4 mm, difusi ekstrak akan lebih lambat (Yusriyani *et al.*, 2023). Perhitungan zona hambat bakteri dapat dihitung dengan rumus berikut:



(Magvirah *et al.*, 2019).

**Gambar 2.8** Rumus Perhitungan Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat diukur dengan rumus:

$$\frac{(Dv - Dc) + (DH - DC)}{2}$$

Keterangan:

■ Zona hambat

DV: Diameter vertikal

DH: Diameter horisontal

DC: Diameter cakram

**Tabel 2.2** Kategori daya hambat bakteri menurut David Stout (dalam A'lana *et al.*, 2017).

Daya Hambat Bakteri	Kategori
$\geq 20$ mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
$\leq 5$ mm	Lemah

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan melakukan pengujian daya hambat daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

#### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus - September 2024 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Laboratorium Kimia Organik, dan Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Genetika dan Molekuler, Laboratorium Riset Biofisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas dari penelitian ini yaitu konsentrasi dari ekstrak daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.), kontrol negatif yakni DMSO sebagai pelarut organik dan kontrol positif siprofloksasin sebagai antibiotik. Variabel terikat dari penelitian ini yaitu efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, parameter yang di uji meliputi diameter zona hambat, uji KHM, dan uji KBM. Variabel terkontrol dari penelitian ini yaitu variabel yang dikendalikan dalam keadaan yang sama antara lain suhu, waktu, inkubasi, kertas cakram dan media yang digunakan.

#### 3.4 Alat dan Bahan

##### 3.4.1 Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu untuk proses ekstraksi, dan uji antibiotik adalah wadah maserasi, timbangan analitik, *rotary vacuum evaporator*, aluminium foil, ayakan 40 mesh, beaker glass, kertas saring, batang pengaduk/spatula, gelas ukur, corong kaca, sheker, *colony counter*, autoklaf, spektrofotometer, cawan petri, ose, inkubator, *Bio Safety Cabinet* (BSC), bunsen, korek api, hot plate, kertas cakram, tabung reaksi, pinset, mikropipet, pipet tetes, jangka sorong, kapas, kasa, rak tabung reaksi, masker, handscoon, tip, plastik anti leleh 3 kg, plastik 1 kg, plastik wrap.

### 3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.), etanol 70%, aquades, MHB, MHA, NaCl 0,9%, DMSO, ciprofloksasin, alkohol 70%, HCl pekat, serbuk Mg, pereaksi Burchard, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff dan FeCl<sub>3</sub> 1%.

## 3.5 Prosedur Penelitian

### 3.5.1 Pembuatan Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

#### 3.5.1.1 Preparasi Sampel

Dikumpulkan daun melinjo kemudian dicuci dengan air mengalir, digerus dan dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari hingga kadar air menyusut. Kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu 40 - 50°C. Simplisia yang kering ditimbang kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia. Serbuk simplisia yang sudah jadi disimpan dalam plastik kedap udara (Nurhayati *et al.*, 2022).

#### 3.5.1.2 Proses Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Ditimbang 100g simplisia daun jambu biji australia kemudian dimasukkan kedalam wadah maserasi dan ditambah 1000 mL etanol 70%. Diaduk selama 30 menit dengan stirrer kemudian didiamkan selama 3x24 jam. Setelah itu, disaring sampel dengan kertas saring. Filtrat yang didapatkan dari penyaringan dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 40°C dengan tekanan rendah sampai diperoleh ekstrak kental (Ihsan *et al.*, 2020). Setelah itu, dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 2 jam hingga didapatkan ekstrak kering dan dihitung nilai rendemen (Tampedje *et al.*, 2016). Rendemen dapat dihitung dengan Persamaan 1 (Sungkar *et al.*, 2018):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat bahan yang di ekstrak}} \times 100\% \text{ (Lampiran 2)}$$

### 3.5.2 Pengenceran

Pengenceran adalah proses menurunkan konsentrasi larutan pekat dengan menambahkan sejumlah pelarut pada larutan dengan volume dan konsentrasi tertentu (Hikmayanti & Utami, 2019). Pengenceran dilakukan menggunakan pelarut DMSO

untuk memperoleh berbagai konsentrasi yang diperlukan dalam menguji kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Konsentrasi yang digunakan mengacu pada penelitian Setiawan & Widiyanti, (2019) dan Muadifah et al., (2019) dengan modifikasi yaitu 40%, 60%, 80%, dan 100%.

**Tabel 3.1 Pengenceran ekstrak**

Konsentrasi Ekstrak	Pengenceran (Ekstrak + DMSO)
40%	0,8gr + 2 mL
60%	1,2gr + 2 mL
80%	1,6gr + 2 mL

### 3.5.3 Pembuatan Larutan Ciprofloxacin dan Kloramfenikol

Kontrol positif disiapkan menggunakan ciprofloxacin 500 mg. satu tablet ciprofloxacin dihaluskan, kemudian sebanyak 50 mg ciprofloxacin dilarutkan dalam 50 ml akuades steril sehingga diperoleh konsentrasi 50 µg/50 µL. Larutan sebanyak 1 ml kemudian dipipet dan diencerkan dengan 10 ml aquades steril, sehingga diperoleh larutan ciprofloxacin dengan konsentrasi 5 µg/50 mL (Dhuha et al., 2016).

Larutan kloramfenikol dibuat dengan melarutkan 50 mg kloramfenikol dalam 50 ml akuades steril menghasilkan konsentrasi 0,1%. Larutan kloramfenikol 0,1% sebanyak 1 ml kemudian dilarutkan dalam 10 ml akuades steril, sehingga diperoleh konsentrasi akhir 0,01% (M. Azizah et al., 2020).

### 3.5.4 Uji Antimikroba

#### 3.5.4.1 Sterilisasi Alat

Media yang sudah dibuat di sterilisasi bersama dengan alat-alat lain yang akan dipakai seperti cawan petri, tabung reaksi, tip mikropipet. Di sterilisasi pakai alat Autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit (Rosmania dan Yanti, 2020).

#### 3.5.4.2 Pembuatan Media MHA

Media Mueller Hinton Agar (MHA) merupakan media yang secara khusus diformulasikan untuk pengujian kerentanan (Hudaya dkk, 2014). Media MHA dibuat dengan melarutkan 34gram media MHA dengan 1liter aquadest dan dikocok. Kemudian panaskan hingga mendidih, setelah itu ditutup menggunakan

kapas dan masukkan media tersebut kedalam autoclave. Sterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu keluarkan media MHA dan tuangkan ke dalam cawan petri (Fitrianingsih *et al*, 2020).

#### **3.5.4.3 Pembuatan Media MHB**

Media Muller-Hinton Broth (MHB) dibuat dengan cara: sebanyak 21gram serbuk media Muller-Hinton Broth (MHB) dilarutkan dalam 1liter akuades, dilakukan pemanasan sambil diaduk. Larutan ditempatkan pada labu erlenmeyer, ditutup dengan kasa steril kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Novitri & Kurniati, 2021).

#### **3.5.4.4 Peremajaan Bakteri**

Media MHA steril ditempatkan dalam cawan petri kemudian dibiarkan memadat. Satu ose bakteri *Shigella dysenteriae* diambil dari stok kemudian diinokulasikan dengan metode streak plate, diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°. Kemudian biakan bakteri dapat disuspensikan (Gading dan Rabima, 2020).

#### **3.5.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji**

Dibakar kawat ose menggunakan api bunsen hingga membara, diambil strain bakteri *Shigella dysenteriae* dengan kawat ose, kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi NaCl fisiologis, dikocok sampai keruh, dimana kekeruhan sama dengan larutan standar Mc. Farland (Dewi dan Fauzana, 2017).

#### **3.4.5.6 Pembuatan Larutan Standar Mc. Farland**

Sebanyak 9 ml larutan H<sub>2</sub>SO 1% dimasukkan kedalam tabung reaksi menggunakan pipet, tambahkan 1 ml larutan BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 1, 175%, lalu dikocok sampai larutan menjadi keruh, keruhnya larutan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Dewi dan Fauzana, 2017).

#### **3.4.5.7 Uji Zona Hambat (*Kirby-baurer*)**

Celupkan kapas lidi steril ke dalam suspensi bakteri yang sudah disamakan kekeruhannya dengan Mc.Farland, tunggu sampai meresap kedalam kapas, oleskan kapas lidi tersebut pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) sampai rata, ambil disk streptomisin menggunakan pinset sebagai kontrol positif,

berikan tekanan sebagai kontrol positif, ambil kertas disk kosong yang berdiameter 6 mm yang sudah terlebih dahulu disterilkan dengan oven pada suhu 121°C selama 15 menit, letakan pada permukaan media, teteskan aquades steril menggunakan mikro pipet 10 mikroliter sebagai kontrol negatif, ambil *paper disk* kosong letakan pada permukaan media, teteskan larutan ekstrak etanol daun melinjo dengan dosis 40% menggunakan mikro pipet 10 mikroliter, beri tekanan, lakukan juga untuk dosis 60%, 80% dan 100%, kemudian inkubasi dalam inkubator selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Diukur zona hambat bakteri yang terbentuk (Dewi dan Fauzana, 2017).

#### **3.4.5.8 Uji KHM**

Pengujian dilakukan dengan menggunakan microwell plate yang terdiri dari 8 baris dan 12 kolom sehingga total terdapat 96 sumur pelat mikro. Pada setiap pengujian diikutsertakan kontrol negatif pada sumur pertama dan kontrol pertumbuhan pada sumur kedua. Kontrol negatif hanya berisi media MHB saja, sedangkan kontrol pertumbuhan berisi media MHB dan suspensi bakteri uji. Langkah pertama adalah semua sumur diisi dengan media MHB sebanyak 100 µL, kecuali kontrol negatif yang berisi 200 µL media MHB. Setelah itu, ke dalam kolom kedua belas yang telah berisi 100 µL media MHB ditambahkan larutan stock (ekstrak daun melinjo) diencerkan 3:5 (60%) sebanyak 200 µL. Dari kolom kedua belas ini, diambil 100 µL campuran kemudian dipindahkan ke dalam kolom kesebelas. Pengenceran terus dilakukan hingga kolom ketiga yang memiliki konsentrasi ekstrak atau pembanding terkecil yaitu 60%, 30, 15%, dan 7,5%, Wiharningtyas et al., (2016) menyatakan bahwa penentuan KHM dilakukan melalui metode dilusi serial, dimana konsentrasi agen antimikroba diturunkan secara bertahap dengan pengenceran bertingkat, seperti 1:2 (w/v), untuk menemukan konsentrasi terkecil yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri setelah konsentrasi 7,5% yang menghambat pertumbuhan bakteri diketahui. Setelah itu Suspensi mikroba *S.dysenteriae* yang telah disesuaikan dengan 0,5 McFarland (1x10<sup>8</sup> CFU/mL) diencerkan 1:200 dalam media MHB steril menghasilkan 5x10<sup>6</sup> CFU/mL. dimasukkan 100 µL suspensi bakteri dalam setiap

sumuran kecuali pada kolom negatif (CLSI, 2015). Microwell plate diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ . Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) diamati sebagai konsentrasi paling rendah dimana tidak terdapat endapan bakteri pada dasar sumur (jernih) yang mengindikasikan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Pengujian ini dilakukan secara triplo (Novitri dan Kurniati, 2021).

#### **3.4.5.9 Uji KBM**

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan selama dua hari untuk mendapatkan hasil yang optimal. Uji ini menggunakan metode pour plate, dimana 1 mL larutan dari hasil KHM dengan konsentrasi 60%, 30%, 15%, dan 7,5% diambil menggunakan mikropipet. Larutan tersebut kemudian diteteskan ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan 9 mL media *Mueller Hinton Agar* (MHA) segar. Campuran tersebut diaduk dengan cara diputar membentuk angka delapan hingga homogen. Setelah itu, cawan petri yang telah dicampur diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18–24 jam. Penilaian kadar bunuh minimum dilakukan dengan menghitung biakan menggunakan *colony counter* (Fadlurrahman *et al.*, 2022).

### **3.6 Analisis Data**

Data yang diperoleh dari penelitian mencakup nilai uji antibakteri, KHM, dan KBM. Uji antibakteri dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk disekeliling sumuran. Selanjutnya, analisis statistik dilakukan menggunakan SPSS versi 25 dengan tingkat kepercayaan 95% atau  $\alpha=0,05$ . Data dianalisis menggunakan uji One-Way Analysis of Variance (ANOVA) dengan syarat bahwa data berdistribusi normal dan homogen. Uji normalitas dilakukan menggunakan Shapiro-Wilk, sedangkan uji homogenitas menggunakan Levene Test. Jika hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik, maka dilakukan uji lanjut Tukey HSD untuk mengidentifikasi kelompok yang memiliki perbedaan efek. Apabila data tidak berdistribusi normal, uji Kruskal-Wallis digunakan sebagai alternatif, dan uji lanjutan dilakukan dengan Mann Whitney jika ditemukan perbedaan yang signifikan.

Penentuan KHM dilakukan dengan mengamati perubahan kekeruhan sebelum dan setelah inkubasi, sementara uji KBM ditentukan berdasarkan konsentrasi terkecil yang membunuh mikroba dilihat dari adanya pertumbuhan bakteri pada media. Perhitungan koloni dilakukan menggunakan *colony counter* atau secara manual.

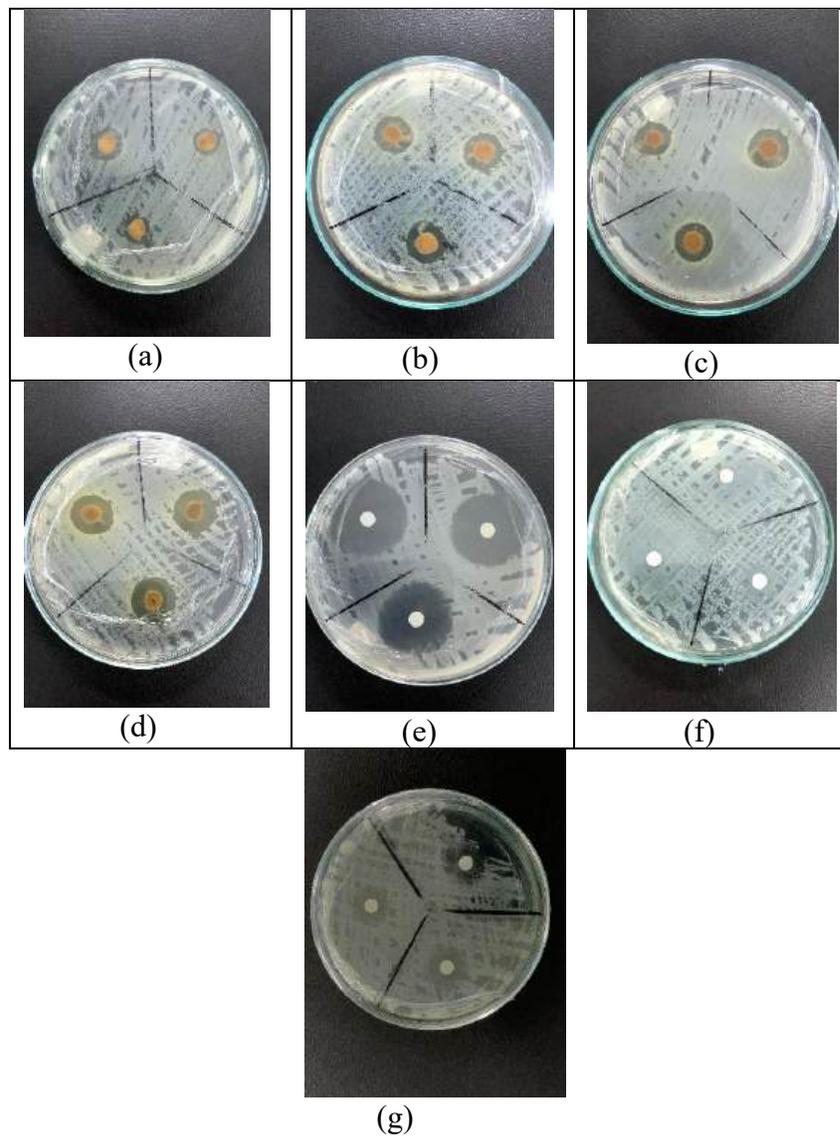
## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Uji Kirby-baurer (Uji Zona Hambat)

Penelitian ini diawali dengan menguji resistensi *Shigella dysenteriae* terhadap kloramfenikol. Hasil pengujian terhadap kloramfenikol menunjukkan bahwa antibiotik ini hanya menghasilkan zona hambat sebesar 4,33 mm, yang tergolong lemah. Hal ini menunjukkan bahwa kloramfenikol tidak lagi efektif dalam mengatasi *Shigella dysenteriae*. Temuan ini sejalan dengan penelitian Meiyanti *et al.*, (2016) yang menemukan bahwa seluruh isolat *Shigella dysenteriae* (100%) menunjukkan resistensi terhadap kloramfenikol dan trimethoprim-sulfametoksazol. Resistensi terhadap kloramfenikol pada *Shigella dysenteriae* dapat dijelaskan melalui mekanisme penghambatan jalur asetilasi oleh enzim kloramfenikol asetiltransferase yang dikendalikan oleh gen *cat*. Gen *cat* ini terikat dalam plasmid, memudahkan transfer gen resistensi antar bakteri (Milanda *et al.*, 2014). Menurut Bale *et al.*, (2023), gen *cat* memiliki tiga varian, yaitu *catA*, *catB*, dan *catC*. *catA* berperan penting dalam resistensi terhadap kloramfenikol, sementara *catB* mempercepat proses resistensi. Peran spesifik *catC* belum diketahui secara rinci (Karungamye *et al.*, 2023). Resistensi yang terjadi pada *S. dysenteriae* ini mengindikasikan bahwa penggunaan kloramfenikol dalam pengobatan *S. dysenteriae* perlu dipertimbangkan kembali, mengingat efektivitasnya yang sudah menurun.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dilakukan sebanyak tiga kali ulangan pada empat seri perlakuan konsentrasi yaitu: 40%, 60%, 80%, dan 100%, ciprofloxacin 1% dan DMSO menggunakan metode difusi *disk* (cakram). Setelah itu, kertas cakram diletakkan di permukaan media MHA yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri uji. Hasil pengujian menunjukkan adanya aktivitas penghambatan yang terlihat dari terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram (*paper disk*). Zona bening tersebut kemudian diukur dan dihitung rata-ratanya tiap kelompok perlakuan, dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Tabel 4.1



**Gambar 4.1** Diameter zona hambat etanol daun melinjo  
a). konsentrasi 40%, b). konsentrasi 60%, c). konsentrasi 80%, d). konsentrasi 100%, e).  
kontrol positif (ciprofloxacin), f). kontrol negatif (DMSO). g). kloramfenikol

**Tabel 4.1 Hasil Pengujian Zona Hambat (Kirby-baurer) Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae***

Perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD	Kategori Zona Hambat
Kontrol negatif	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	Tidak ada hambatan
Konsentrasi 40%	10,33 $\pm$ 1,03 <sup>b</sup>	Kuat
Konsentrasi 60%	10,67 $\pm$ 2,25 <sup>b</sup>	Kuat
Konsentrasi 80%	13,33 $\pm$ 1,03 <sup>b</sup>	Kuat
Konsentrasi 100%	13,67 $\pm$ 1,43 <sup>b</sup>	Kuat
Kontrol positif	22,83 $\pm$ 1,25 <sup>c</sup>	Sangat kuat

Keterangan: K-: DMSO, K+: Ciprofloxacin

NB: Rerata yang diikuti notasi huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (sama)

Hasil pengujian menunjukkan bahwa data diameter zona hambat ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap *Shigella dysenteriae* telah memenuhi syarat berdistribusi normal. Hal ini dibuktikan melalui uji normalitas yang menghasilkan nilai signifikansi  $p > 0,05$  (Lampiran 4). Selain itu, hasil uji homogenitas data menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0,066 ( $p > 0,05$ ) yang mengindikasikan bahwa data memiliki varians yang sama atau homogen (Lampiran 5). Hal ini menunjukkan bahwa data memenuhi syarat untuk dilakukan analisis statistik menggunakan uji parametik, yaitu uji One Way ANOVA.

Selanjutnya, hasil analisis statistik menggunakan uji One Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), yang menandakan adanya perbedaan signifikan pada rata-rata diameter zona hambat antara kelompok perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda. Untuk menggali lebih jauh perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan, dilakukan uji lanjutan Beda Nyata Terkecil (BNT) atau Tukey.

Berdasarkan hasil uji Tukey menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan yang ditunjukkan oleh notasi yang sama pada (Tabel 4.1).

Pemberian ekstrak etanol daun melinjo dengan konsentrasi 40% hingga 100% menghasilkan zona hambat yang sama secara statistik (Tabel 4.1). Perlakuan ekstrak dapat menghambat pertumbuhan dari *Shigella dysenteriae*, hal ini ditunjukkan oleh adanya zona hambat dibandingkan dengan kontrol negatif. Namun kurang kuat jika dibandingkan dengan kontrol positif (Ciprofloxacin) yang memiliki daya hambat  $22,83 \pm 1,25^\circ$  yang berarti, kontrol positif lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak 100%.

Berdasarkan pedoman Setiawan & Widiyanti, (2018) membuktikan bahwa ekstrak daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% menunjukkan adanya daya hambat kategori kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini sejalan dengan temuan Apriliantisyah *et al.*, (2022) yang juga melaporkan bahwa peningkatan zona hambat pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi. Hal tersebut dikaitkan dengan meningkatnya kandungan senyawa bioaktif pada konsentrasi tinggi yang memperkuat difusi antimikroba dan memperluas zona hambat. Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun melinjo menjadi faktor utama yang mendukung aktivitas antibakterinya.

Kandungan senyawa bioaktif dalam daun melinjo seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, memainkan peran penting dalam aktivitas antibakterinya (Andasari *et al.*, 2020). Flavonoid, terutama quercetin bekerja dengan merusak dinding sel bakteri dan mengganggu proses metabolisme protein (Handarni *et al.*, 2020; Kamath *et al.*, 2008). Sementara itu, alkaloid menghambat sintesis protein, dan saponin memengaruhi tegangan permukaan membran sel bakteri, memungkinkan senyawa antibakteri untuk menembus sel bakteri dengan mudah (Munfaati *et al.*, 2015). Tanin dan Triterpenoid turut mendukung aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu struktur membran sel dan menurunkan permeabilitasnya (Munfaati *et al.*, 2015; Rachmawati, (2009); Epanand *et al.*, (2007).

Quercetin, flavonoid utama yang ditemukan dalam ekstrak daun melinjo memiliki sifat antibakteri yang signifikan. Dengan lima gugus hidroksi (-OH), quercetin bersifat sangat polar, yang memungkinkan interaksi kuat dengan protein dinding sel bakteri mengakibatkan kerusakan dan akhirnya kematian bakteri (Maulita

*et al.*, 2009). Selain itu penelitian Isnaini *et al.*, (2021) juga menunjukkan bahwa ekstrak daun melinjo mengandung berbagai senyawa bioaktif lain seperti steroid, polifenol, dan hidroquinon, yang semuanya berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian Wulansari *et al.*, (2020) juga menduga bahwa sifat lipofilik terpenoid dalam ekstrak ini dapat mengganggu stabilitas membran sel bakteri, memperkuat efektivitas antibakterinya.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun melinjo memiliki potensi besar sebagai alternatif alami untuk mengatasi resistensi antibiotik, khususnya terhadap kloramfenikol. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin besar efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. Dengan demikian, ekstrak etanol daun melinjo dapat menjadi Solusi potensial dalam mengembangkan pengobatan antibakteri yang lebih efektif dan berkelanjutan.

#### **4.2 Uji konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae***

##### **4.2.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae***

Tujuan dari dilakukannya microdilution test untuk menentukan konsentrasi terendah dari antibakteri ekstrak daun melinjo yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Efektivitas ekstrak di uji melalui pengukuran dua jenis konsentrasi, yaitu Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Hasil pengujian ini memungkinkan kita mengetahui sifat aktivitas antimikroba bakteristatik atau bakterisida.

Konsentrasi hambat minimum atau KHM adalah konsentrasi terendah dari senyawa antibakteri yang mampu menekan pertumbuhan mikroorganisme. Untuk mendapatkan hasil dari uji KHM dilakukan dengan cara mengamati pertumbuhan bakteri *S.dysenteriae* sebelum maupun sesudah inkubasi yang dilihat dari perbedaan kekeruhan larutan menggunakan spektrofotometer (Rachmawaty, 2016). Hasil uji KHM ditunjukkan pada tabel berikut.

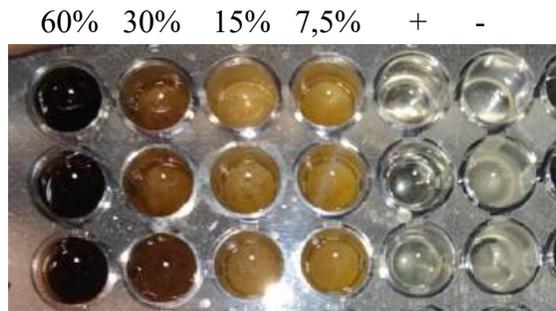
**Tabel 4.2 Hasil Uji KHM Ekstrak Etanol Daun Melinjo Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara Kualitatif (*Microdilution Test*)**

Perlakuan	Hasil ulangan		
	1	2	3
Ekstrak etanol daun melinjo			
Kontrol negatif	+++	+++	+++
Kontrol positif	-	-	-
Konsentrasi 60%	-	-	-
Konsentrasi 30%	+	+	-
Konsentrasi 15%	++	++	++
Konsentrasi 7,5%	+++	+++	+++

Keterangan: (-: jernih, +: sedikit keruh, ++: keruh, +++: sangat keruh)

Kontrol negatif: DMSO

Kontrol positif: Ciprofloxacin



**Gambar 4.2** Hasil pengamatan KHM ekstrak etanol daun melinjo dengan *microdilution test* (Dokumen pribadi)

Pada tabel hasil pengujian, konsentrasi 30% ekstrak etanol daun melinjo menunjukkan adanya kekeruhan pada dua sumur, sedangkan satu sumur tetap jernih. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, Sebagian besar bakteri masih mengalami pertumbuhan, namun ada satu sumur yang menunjukkan tanda-tanda penghambatan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan pengamatan ini, dapat dikatakan bahwa konsentrasi 30% ekstrak etanol daun melinjo sudah mendekati Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), karena satu sumur telah menunjukkan kejernihan, yang mengindikasikan bahwa pada konsentrasi tersebut bakteri mulai terhambat

pertumbuhannya. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) diamati sebagai konsentrasi paling rendah dimana tidak terdapat endapan bakteri pada dasar sumur (jernih) yang mengindikasikan terhambatnya pertumbuhan bakteri (Choirunnisa & Sutjiatmo, 2017). Aktivitas antibakteri dapat ditingkatkan dari efek menghambat menjadi membunuh bakteri, dengan meningkatkan konsentrasi sampel uji diatas nilai KHM. Hasil pengamatan konsentrasi 60% ekstrak daun melinjo tidak terdapat pertumbuhan koloni yang ditandai dengan tidak terjadinya kekeruhan pada sumur. Sehingga ekstrak daun melinjo bersifat bakteristatik dan bakterisida, dimana kandungan metabolit sekundernya mampu menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri. Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, ditandai dengan terjadi kekeruhan pada sumur yang menandakan adanya pertumbuhan koloni bakteri.

Metode mikrodilusi dipilih dalam penelitian ini karena memiliki beberapa keunggulan, seperti sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan difusi, penggunaan sampel yang lebih sedikit, serta kemampuan menghasilkan data semikuantitatif hingga kuantitatif yang memungkinkan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) secara akurat (Eloff, 1988; dalam Sari *et al.*, 2021).

Metode dilusi cair bekerja berdasarkan prinsip pengenceran sampel uji hingga menghasilkan berbagai tingkat konsentrasi. Setiap konsentrasi tersebut kemudian dicampurkan dengan suspensi bakteri dalam media. Salah satu keunggulan metode serial dilusi adalah kontak antara sampel uji dan bakteri menjadi lebih optimal karena area permukaan media yang luas. Selain itu, metode ini memungkinkan pengujian bakteri menggunakan jumlah sampel yang minimal, sehingga lebih hemat dan mudah diterapkan.

Namun, metode ini juga memiliki keterbatasan, seperti konsentrasi sampel uji yang hanya dapat dicapai pada tingkat tertentu akibat proses pengenceran berurutan, yang berpotensi menciptakan daya hambat pada konsentrasi rendah. Selain itu, risiko kesalahan saat mendistribusikan sampel cukup tinggi, yang dapat memengaruhi keakuratan hasil (Hasil *et al.*, 2022; Nurul *et al.*, 2023).

#### 4.2.2 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*

Penentuan nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan larutan uji dengan konsentrasi dari uji penentuan KHM yaitu 60% yang menandakan adanya kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada uji penentuan nilai KHM yang dilakukan sebelumnya. Dengan menggunakan konsentrasi yang sudah diketahui bahwa memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* tersebut, diharapkan media agar tetap jernih yang berarti larutan uji dengan masing-masing seri konsentrasi yang diberikan dapat membunuh bakteri *Shigella dysenteriae*. Hasil uji penentuan nilai KBM dengan konsentrasi 60% disajikan dalam gambar 4.3

Setelah diinkubasi selama 24 jam, didapatkan hasil dari uji penentuan nilai KBM yang ditunjukkan pada gambar 4. Hasil didapatkan diamati secara visual. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada semua cawan petri yang telah dituang ekstrak uji kemudian diikuti dengan media MHA masing-masing konsentrasi yang digunakan, bakteri *Shigella dysenteriae* masih dapat bertumbuh pada media ditandai dengan bintik-bintik putih (koloni) pada media. Pada konsentrasi tertinggi yang digunakan yaitu 60% pada penelitian ini, tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* (bersih). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 60% yang digunakan pada penelitian ini mampu menghambat dan membunuh bakteri *Shigella dysenteriae*. Dengan demikian, nilai KBM pada penelitian ini konsentrasi 60% ekstrak etanol daun melinjo dapat dinyatakan sebagai bakteriostatik dan bakterisida. Trisha *et al.*, 2024 dalam penelitiannya menyebutkan bahwa ekstrak metanol daun melinjo memiliki potensi sebagai bakteriostatik pada bakteri gram positif *B. pumilus*, *B. megaterium* dan *S. aureus* memiliki konsentrasi KHM masing-masing sebesar 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL, dan 12,5 mg/mL, dengan konsentrasi MBC sebesar 12,5 mg/mL, 25,0 mg/mL, dan 25,0 mg/mL. Sementara itu, *E. coli*, *S. Typhimurium*, dan *E. aerogenes* memiliki nilai MIC masing-masing 25,0 mg/mL, 12,5 mg/mL, dan 12,5 mg/mL dengan nilai MBC >50,0 mg/mL, 25,0 mg/mL, dan >50,0 mg/mL.

Tabel 4.3 Hasil Perhitungan Cawan (*Total Plate Count*)

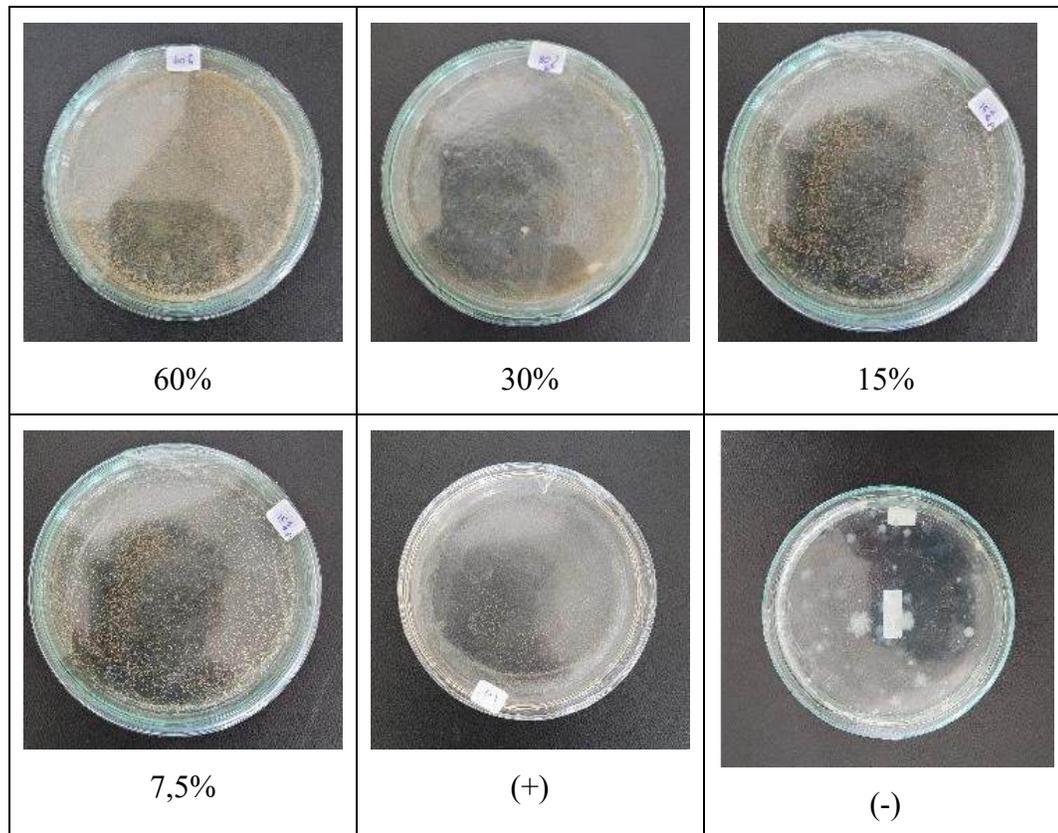
Mikroba uji	Konsentrasi Ekstrak Daun Melinjo	Hasil <i>Total Plate Count</i> (CFU/mL)
<i>Shigella dysenteriae</i>	K-	TBUD
	K+	0
	60%	0
	30%	2,8 X 10 <sup>4</sup>
	15%	5,12 X 10 <sup>4</sup>
	7,5%	TBUD

Keterangan:

TBUD : Terlalu Banyak Untuk Dihitung (jumlah koloni >250)

Warna biru : nilai positif KBM

Warna Kuning : KHM Kuantitatif



Gambar 4.3 *Total Plate Count* (TPC)

Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Jawetz *et al.*, 2008 dalam Goetie *et al.*, 2022). Konsentrasi zat antibakteri seperti tannin dan flavonoid memiliki korelasi dengan aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak. Kandungan flavonoid dan tannin yang tinggi pada sampel akan meningkatkan aktivitas antibakterinya (Manik *et al.*, 2014; Qonita *et al.*, 2019). Jumlah zat antimikroba yang semakin besar menyebabkan semakin banyak bakteri yang dirusak baik dari struktur sel atau sistem metabolisme sel bakteri sehingga bakteri yang terpapar zat antimikroba akan terhambat pertumbuhannya atau mati (Afifi & Erlin, 2017). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Zhafirah *et al.*, (2023) bahwa Daun melinjo memiliki kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, serta steroid. Terdapatnya senyawa metabolit sekunder pada ekstrak dapat dihubungkan dengan sifat antibakteri pada masing-masing senyawa dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Tumbuhan yang mengandung tanin diketahui memiliki kemampuan antimikroba yang sangat baik. Sebagai molekul ligan multidentan, tanin dapat berikatan dengan protein melalui interaksi hidrofobik dan ikatan hydrogen (Kaczmarek, 2020). Pada bakteri gram negatif, lapisan lipopolisakarida yang menyusun membrane luarnya menjadi penghalang utama terhadap aksi antibiotik, sedangkan dinding selnya berfungsi melindungi bakteri dari lingkungan luar, sekaligus menjaga bentuk dan integritas strukturalnya.

Tanin dapat mengganggu sintesis dinding sel dengan menginaktivasi enzim yang terlibat dalam proses tersebut atau langsung berikatan dengan fosfolipid pada membran sel bakteri, yang menyebabkan kerusakan structural membran, kebocoran metabolit esensial, dan akhirnya mengakibatkan sistem enzim bakteri menjadi tidak aktif (Maiola *et al.*, 2014).

Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan tiga mekanisme utama, yaitu membunuh bakteri secara langsung, meningkatkan efektivitas antibiotik melalui sinergi, dan melemahkan patogenitas bakteri. Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sel, serta

mengacaukan metabolisme energi. Cincin B pada struktur flavonoid berkontribusi dalam proses interkalasi atau pembentukan ikatan hydrogen dengan nukleotida, yang menyebabkan terhambatnya sintesis DNA dan RNA (Xie *et al.*, 2015). Gangguan fungsi membran sel terjadi akibat pembentukan kompleks flavonoid dengan protein ekstraseluler yang larut, sehingga merusak integritas membran sel bakteri (Rahman *et al.*, 2017).

#### **4.3 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Melinjo Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Berdasarkan Sudut Pandang Islam**

Kandungan senyawa antibakteri daun melinjo merupakan salah satu tanda kebesaran dan kekuasaan Allah SWT. Allah menciptakan alam semesta beserta isinya dengan tujuan yang jelas dan penuh kebijaksanaan. Tidak ada satupun ciptaan Allah yang sia-sia, baik di langit maupun di bumi. Setiap makhluk dan fenomena alam adalah tanda kebesaran-Nya, yang seharusnya mendorong manusia untuk berpikir, merenungi kebesaran Allah, dan bersyukur atas segala nikmat yang telah diberikan. Sebagaimana firman Allah dalam (QS. Shad: 27)

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ذَلِكَ ظَنَّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ﴿٢٧﴾

Artinya: “Kami tidak menciptakan langit dan bumi serta apa yang ada diantara keduanya secara sia-sia. Itulah anggapan orang-orang yang kafur. Maka, celakalah orang-orang yang kafur karena (mereka akan masuk) neraka.”

Ayat ini mengingatkan bahwa ciptaan memiliki hikmah dan tujuan yang jelas, sehingga kita sebagai umat manusia dituntut untuk senantiasa berpikir dan bersyukur atas segala sesuatu yang diciptakan Allah. Daun melinjo menjadi salah satu contoh dari ciptaan Allah yang tidak hanya berguna sebagai sumber pangan, tetapi juga memiliki potensi sebagai antibakteri yang bermanfaat bagi kesehatan. Manfaat dari daun melinjo mengajak kita untuk merenung lebih dalam tentang kebesaran Allah yang sering kali tersembunyi dibalik hal-hal yang terlihat sederhana.

Dengan izin Allah, senyawa aktif dalam daun melinjo berfungsi sebagai agen antibiotik alami. Mekanisme kerja ini menunjukkan sistem yang telah ditetapkan oleh

Allah, dimana senyawa antibakteri dalam daun melinjo dapat memberikan manfaat optimal bila digunakan dalam dosis yang sesuai. Dalam bidang Kesehatan, pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) memiliki peran penting untuk menentukan tingkat dosis terendah yang efektif dalam menghambat atau membunuh mikroba. Hal ini juga membantu mengurangi resiko munculnya resistensi akibat penggunaan antibiotik dalam dosis yang berlebih (Afifi dan Erlin, 2017). Sebagaimana firman Allah dalam (QS. Al-A'raf 7:31)

كُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Artinya: “Makan dan minumlah, tetapi jangan berlebihan, sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan”

Ayat di atas menunjukkan bahwa Allah tidak menyukai sesuatu yang berlebihan. Quthb (2004) menjelaskan bahwa “israf” berarti melampaui batas dari yang semestinya dalam segala sesuatu sehingga tidak memberikan manfaat melainkan mudharat bagi dirinya. Hal ini menunjukkan bahwa segala sesuatu memiliki ukuran atau takaran yang sesuai dengan kebutuhan manusia. Di dalam ilmu Kesehatan, penggunaan antibiotik harus sesuai dengan dosisnya tidak boleh melebihi batas yang ditentukan. Hal ini juga dipertegas dalam (QS. Al-Hijr (15): 19-21):

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ، وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ، وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَعْلُومٍ

Artinya: “Dan bumi itu Kami hamparkan, serta Kami pancangkan padanya gunung-gunung, dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan Kami jadikan untukmu berbagai keperluan hidup disana, dan (Kami ciptakan pula) makhluk-mahluk yang bukan kamu pemberi rezeki baginya. dan tidak ada sesuatu pun melainkan pada sisi Kami-lah perbendaharaannya, dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran tertentu”

Ayat diatas secara tegas menyebutkan bahwa segala sesuatu di bumi, termasuk tumbuh-tumbuhan, diciptakan dengan “ukuran yang tertentu”. Menurut tafsir Al-Qurthubi maksud dari ayat “وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ” adalah Allah telah

menumbuhkan dan menciptakan padanya, yakni segala sesuatu di bumi itu menurut ukuran yang tepat sesuai kebutuhan dan hikmah.

Menurut tafsir Al-Qurthubi, segala sesuatu di bumi ini diciptakan Allah dengan takaran yang tepat sesuai kebutuhan dan hikmah. kata “مَوْزُونٍ” (ukuran) dan “بِقَدْرِ مَعْلُومٍ” menjelaskan bahwa setiap ciptaan memiliki keseimbangan, baik dari kuantitas maupun kualitasnya. Menurut Dr. Abdullah dalam bukunya yang berjudul Tafsir Ibnu Katsir adalah Allah SWT dalam menciptakan bumi, gunung dan menumbuhkan sesuatu telah menetapkan mauzunnya. Ukuran dan ketetapan Allah SWT dalam setiap ciptaan-Nya tidak semata-mata hanya agar ada perbedaan antara ciptaan satu dengan yang lain. Akan tetapi lebih dari pada fungsi masing-masing ciptaan Allah.

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun melinjo memiliki potensi sebagai antibakteri yang baik, dibuktikan dengan diameter hambat, KHM, dan KBM. Dalam penggunaan obat antibakteri, dosis atau takaran yang tepat sangat penting untuk memperoleh hasil yang maksimal. Penggunaan antibiotik dalam dosis berlebihan dapat menyebabkan resistensi bakteri, sehingga pengobatan menjadi tidak efisien dan efektif.

Allah juga menganjurkan setiap umat-Nya untuk berikhtiar mencari kesembuhan terhadap suatu penyakit. dalam sebuah hadist riwayat Ahmad, Rasulullah SAW bersabda:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

“Setiap penyakit ada obatnya, dan jika obat yang tepat digunakan untuk penyakit itu, maka penyakit itu akan sembuh dengan izin Allah” (HR. Bukhari)

Hadist ini menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan suatu penyakit tidak terkecuali dengan obatnya. Oleh karena itu, sebagai manusia yang berakal seharusnya mengobati penyakit yang dialami agar dapat pulih dan Kembali beribadah kepada Allah. Berdasarkan penelitian ini, senyawa aktif dalam daun melinjo memiliki kemampuan sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif shigellosis.

Lingkungan memiliki peran penting dalam memenuhi kebutuhan manusia, termasuk menyediakan obat-obatan alami yang berasal dari kekayaan alam sekitar. Sebagai khalifah di muka bumi, manusia memiliki tanggung jawab untuk memanfaatkan setiap ciptaan Allah SWT dengan bijaksana, termasuk berbagai jenis tanaman yang telah disediakan-Nya. Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa daun melinjo memiliki potensi sebagai obat tradisional yang efektif dalam mengatasi masalah Kesehatan. Selain itu, penggunaan antibiotik berbahan alami seperti daun melinjo dianggap lebih aman bagi tubuh dan lingkungan. Bagi individu yang memiliki alergi terhadap antibiotik kimia, daun melinjo dapat menjadi alternatif pengobatan yang lebih ramah lingkungan dan tetap memberikan manfaat Kesehatan.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Aktivitas ekstrak etanol 70% daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) efektif dalam menghambat bakteri *Shigella dysenteriae*.
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol 70% daun melinjo terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* berada pada konsentrasi 30%, sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berada pada konsentrasi 60%.

#### **5.2 Saran**

Saran dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian terhadap aktivitas antibakteri nanopartikel daun melinjo
2. Penelitian perlu lanjut secara in vivo terhadap pengaruh ekstrak etanol daun melinjo terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*
3. Pengujian microdilution test agar dilakukan dengan pencampuran larutan secara konsisten menggunakan pipetting naik-turun sebelum dimasukkan ke dalam sumur, sehingga distribusi ekstrak dan bakteri lebih merata dan hasil menjadi lebih akurat
4. Penelitian selanjutnya pada uji KHM mikrodilution test dapat menggunakan alat turbidimetri untuk mengukur kekeruhan secara kuantitatif, sehingga hasil lebih akurat dan objektif dibandingkan dengan pengamatan visual.
5. Sebelum dimasukkan suspensi bakteri pada pengujian KHM microdilution test, ada baiknya dilakukan pengukuran tingkat kekeruhan pada warna ekstrak, untuk meningkatkan akurasi penelitian

## DAFTAR PUSTAKA

- A'lana, L. L., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2017). Penentuan nilai FICI kombinasi ekstrak etanol kulit daun lidah buaya (*Aloe vera* (L) Burm. f) dan gentamisin sulfat terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(3), 3.
- Achmadi, U. F. (2009). Manajemen penyakit berbasis wilayah. *Kesmas: Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional (National Public Health Journal)*, 3(4), 147-153.
- Adnyana IK, Yulina E, Sigit JI, Fisheri NK, dan Insanu M, 2004. Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji Daging Buah Merah Sebagai Antidiare. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. XXIX (1): 2-9.
- Afifi, R., Erlin, E. (2017). Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat *Propionibacterium acnes* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 17(2), 321–330.
- Aini, F. (2018). Isolasi dan identifikasi *Shigella* sp. penyebab diare pada balita. *BIO-SITE| Biologi Dan Sains Terapan*, 4(1), 07-12.
- Amin, L. Z. (2014). Pemilihan antibiotik yang rasional. *Medical Review*. 27(3): 40–5. 27(3), 40–45.
- Andasari, S. D., Indriyastuti, I., & Arrosyid, M. (2020, December). Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* S). In *Prosiding University Research Colloquium* (pp. 257-262).
- Anggraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniastuti, A., Lisdiana, W. H., Habibah, N. A., & Bintari, S. H. (2018). Metabolit sekunder dari tanaman: aplikasi dan produksi. *Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang (UNNES), Semarang*.
- Azizah, M., & Ekawati, S. (2017). Profil Kromatogram dan Uji Aktivitas Antibiotik Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap Bakteri Penyebab Disentri dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Penelitian Sains*, 19(2), 86–93.
- Baloch, E. (2011). *Gnetum gnemon*.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Balafif, R. A. R., Andayani, Y., Gunawan, E. R. (2013). Analisis Senyawa Triterpenoid dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn). *Chem. Prog.* 6(2).

- Bale, B. I., Elebesunu, E. E., Manikavasagar, P., Agwuna, F. O., Ogunkola, I. O., Sow, A. U., & Lucero-Prisno, D. E. (2023). Antibiotic resistance in ocular bacterial infections: an integrative review of ophthalmic chloramphenicol. *Tropical Medicine and Health*, 51(1).
- Bangkele, E. Y., & Greis, S. (2015). Efek Antibiotik dari Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* [L] Swartz) terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Kesehatan Tadulako*, 1(2), 52–60.
- Bergey's. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. USA: Springer. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01435-0>
- Biharee, A., Sharma, A., Kumar, A., & Jaitak, V. (2020). Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. *Fitoterapia*, 146, 104720.
- Cadiz RT, Florido HB. 2001. BAGO *Gnetum gnemon* Linn. *Research Information Series on Ecosystems*,13(2):3-4
- Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2015). *Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 27 E*. McGraw Hill Professional.
- Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. (2016). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology* (27th Ed.). New York: McGraw-Hill.
- Chen, X., Mukwaya, E., Wong, M. S., & Zhang, Y. (2014). A systematic review on biological activities of prenylated flavonoids. *Pharmaceutical biology*, 52(5), 655-660.
- Choirunnisa, A., & Sutjiatmo, A. B. (2017). Pengaruh kombinasi ekstrak etanol herba cecendet (*Physalis angulata* l.) dengan beberapa antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumonie*. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), 50–55
- Choma, I. M., & Grzelak, E. M. (2011). Bioautography detection in thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1218(19), 2684–2691.
- Cowan MM, 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12. 564–582
- Darminto, D., Ali, A., & Dini, I. (2009). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Potensial Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophyla* dari Kulit batang Tumbuhan *Aveccennia* spp. *CHEMICA" Jurnal Ilmiah Kimia dan Pendidikan Kimia"*, 10(2), 92-98.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, S., & Rianingsih, L. (2018). Uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *Holothuria atra* sebagai antibiotik *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 15-24.

- El Ouadi, Y., Bendaif, H., Mrabti, H. N., Elmsellem, H., Kadmi, Y., Shariati, M. A., ... & Bouyanzer, A. (2017). Antioxidant activity of phenols and flavonoids contents of aqueous extract of *Pelargonium graveolens* origin in the North-East Morocco. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(5), 1218.
- Engelkirk, P. G., & Duben-Engelkrik, J. (2011). *Burton's Microbiology for the Health Sciences 10th Ed.* (9th Ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Handarni, D., Putri, S. H., & Tensiska, T. (2020). Skrining Kualitatif Fitokimia Senyawa Antibiotik pada Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 8(2), 182-188.
- Haryani, S., Aisyah, Y., Yunita, I. 2016. Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.): Pengaruh Jenis Pelarut dan Metode Ekstraksi. Prosiding Seminar Nasional BKS PTN Wilayah Barat Bidang Ilmu Pertanian: 464-473.
- Ilodibia, C., Ugwu, U.S., Nwokolo O.L., Chukwuma, M.U. 2015, Phytochemical Screening, Antifungal and Antibacterial Activity of Aqueous and Ethanolic Leaf and Stem Extracts of *Gnetum africanum* Welw, *Research Journal of Medical Plan*, 9(6):275-283.
- Jalal, K., Abu-Izneid, T., Khan, K., Abbas, M., Hayat, A., Bawazeer, S., & Uddin, R. (2022). Identification of vaccine and drug targets in *Shigella dysenteriae* sd197 using reverse vaccinology approach. *Scientific reports*, 12(1), 251.
- Jawetz E, Malnick JL, dan Adelberg EA, 2012. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 25. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, dan Ornston LN, 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. Jakarta: EGC. Alih bahasa: Edi Nugroho & Maulany RF.
- Judaibi, A. (2014). Antibacterial Effects of Extracts of Two Types of Red Sea Algae. *Journal of Bioscience and Medicines*, 2(2): 1-7
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia tinjauan metabolit sekunder dan skrining fitokimia. *Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia*.
- Kaczmarek, P. (2020). Efektivitas Tanin sebagai Agen Antibakteri Melalui Penghancuran Dinding Sel Bakteri. *Jurnal Kimia Medis*, 10(2), 95-103.
- Kamath, J. V., Rahul, N., Kumar, C. A., & Lakshmi, S. M. (2008). *Psidium guajava* L: A review. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 2(1).
- Karungamy, P., Rugaika, A., Mtei, K., & Machunda, R. (2023). Antibiotic Resistance Patterns of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Hospital Wastewater. *Applied Microbiology*, [online] 3(3):867–882

- Kining E. 2015. Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Air Daun Melinjo, Daun Singkong dan Daun Papaya terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara In Vitro. [skripsi]. Bogor. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor; 2015. h 9-25.
- Kining, E. (2022). Antibacterial and Antibiofilm Activity of Melinjo Leaf Water Extract against *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 7(1), 19-31.
- Kotloff, K. L., Riddle, M. S., Platts-Mills, J. A., Pavlinac, P., & Zaidi, A. K. M. (2017). Shigellosis. *The Lancet*, 391(10122), 801–812. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33296-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33296-8)
- Lestari, S., Malaka, R., & Garantjang, S. (2013). Pengawetan telur dengan perendaman ekstrak daun melinjo (*Gnetum gnemon* linn). *J. Sains & Teknologi*, 13(2), 184-189.
- Liem, A. F., Holle, E., Gemnafle, I. Y., & Wakum, S. (2013). Isolasi Senyawa Saponin dari Mangrove Tanjung (*Bruguiera gymnorhiza*) dan Pemanfaatannya sebagai Pestisida Nabati pada Larva Nyamuk. *Jurnal Biologi Papua*, 5(1), 29-36.
- Lim, T. K. (2012). *Edible medicinal and non-medicinal plants* (Vol. 1, pp. 285-292). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji Antibiotik Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1).
- Magvirah, T., Marwati, & Ardhani, F. (2019). Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2(2), 41–50.
- Mailoa, M.N., Mahendradatta, M., Laga, A., Djide, N. (2014). Tannin extract of guava leaves (*Psidium guajava* L) variation with concentration organic solvents. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 2(9), 106-110.
- Malik, A., Radji, M., Kralj, S., & Dijkhuizen, L. (2009). Screening of lactic acid bacteria from Indonesia reveals glucansucrase and fructansucrase genes in two different *Weissella confusa* strains from soya. *FEMS microbiology letters*, 300(1), 131-138.
- Megawati, A., & Sari, D. F. (2018). Rasionalitas Penggunaan Antibiotik Untuk Pengobatan Diare Pada Pasien Anak Di Instalasi Rawat Inap Rsud Raa Soewondo Pati Tahun 2017. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(1), 68-80.
- Meiyanti, Salim OC., Herwana E.V Kalupiu J., Lesmana M. (2016). Antibiotik Susceptibility of Salmonella, Shigella and Vibro Isolated from Diarrhea Patients. Jakarta : Indonesia JKKI 7(3), 95 – 101.

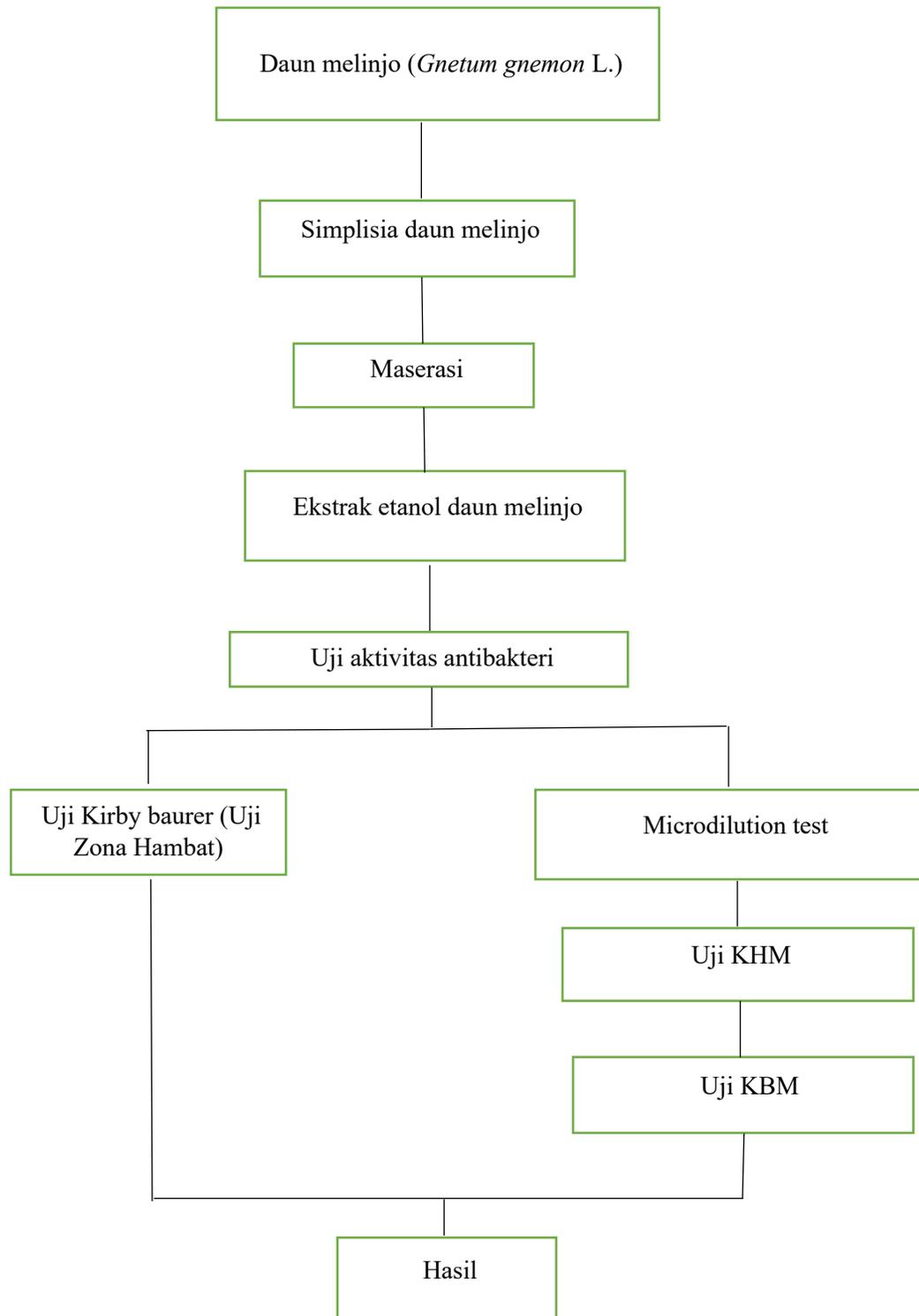
- Melton-Celsa AR, 2014. Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. *Microbiology Spectrum*; 2(2): 1-21.
- Milanda, T., Dewi, L. K., Kusuma, S. A. F. Deteksi Gen Kloramfenikol (cat) Pada *Pseudomonas aeruginosa* Isolat Klinik dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 3(4), 141-150.
- Monica DR, Khairani AF, dan Tumbol MV, 2018. Daya Antibiotik Ekstrak Etanol Bawang Sabrang (*Eleutherine americana*) terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella enteritidis*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*; 18(1): 109–117.
- Mulyanto, J. (1995). *Budidaya Melinjo*. Yogyakarta: Kanisius.
- Munfaati, P. N., Ratnasari, E., Trimulyono, G. (2015). Aktivitas Senyawa Antibiotik Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara in Vitro. *Jurnal LenteraBio*, 4(1), 64-71.
- Nafianti, S., & Sinuhaji, A. B. (2005). Resistensi Trimetoprim – Sulfametoksazol terhadap Shigellosis. *Sari Pediatri*, 7(1), 39–44.
- Nn, A. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04(03), 3– 8. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Noor MA, Apriasari ML, 2014. Efektivitas Antibiotik Ekstrak Methanol Batang Pisang Mauli (*Musa acumuminata*) dan *Povidone Iodine* 10% Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI*. Vol. 63(30). h 78-8.
- Nurrahmah, A.N. 2021, ‘Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L. (Linn.)) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Bakteri *Escherichia coli*’, Skripsi, S.Farm, Jurusan Farmasi, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.
- Paju N, Yamlean PV, Kojong N (2013). Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia Steenis.*) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon* 2(1):51–61.
- Pamudi, B. F., Munira., Zakiah, N., Nasir, M. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jamblang dari Kawasan Geotermal: Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). *Jurnal SAGO Gizi dan Kesehatan*. 5(1).
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47.
- Permana, Derry., Emelia, Rida. 2022. Analisis penggunaan obat rasional pengobatan diare non spesifik di apotek kimia farma 167 Cimahi. *Jurnal social dan sains*. Vol.2, No.1.Politeknik Piksi Ganesha Bandung.
- Pratiwi, Sylvia T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga

- Pratiwi, D., Suswati, I., & Abdullah, M. (2013). Efek anti bakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia*) terhadap *Salmonella Typhi* secara in vitro. *Saintika Medika*, 9(2), 110-115.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418–429
- Prihantoro, T., Indra, R., & Sumarno. (2006). Efek Antibiotik Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum*) terhadap *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, XXII, No.3
- Puspitasari, R., Rahmat, D., & Djamil, R. (2023). Nanopartikel ekstrak etil asetat daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan aktivitas antioksidan dan antibiotik terhadap *propionibacterium acnes*. *Gema Wiralodra*, 14(1), 554-560.
- Rahardja, P. C. (2002). *Bertanam Melinjo*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahayu, E., & Rahmawati, L. (2021). Teknik Perbanyak Tanaman Melinjo (*Gnetum gnemon*) Dengan Cara Okulasi Sambung. *KENANGA: Journal of Biological Sciences and Applied Biology*, 1(1), 18-24.
- Rahayu, W. (2013). *Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak buah melur (Brucea javanica [L.] Merr) terhadap bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus secara in vitro* (Doctoral dissertation, Universitas Negeri Padang).
- Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. W. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibiotik Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>
- Rachmawaty, Farida Juliantina. (2009). Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Riedel, S., Morse, S. A., Mietzner, T., & Miller, S. (2019). *Jawetz, Melnick, & Adelbergs Medical Microbiology* (28th Ed.). New York: McGraw-Hill.
- Rizki, N. I., Hayat, A. N., Amalia, H., Wakhid, M. R., Saputri, R., Abdalla, A. U. A., & Wijaya, A. (2023). Participatory Action Research: Pengorganisasian Masyarakat Dalam Mengurangi Penggunaan Obat Kimia Melalui Pemanfaatan Tanaman Obat Keluarga (Studi Kasus Di Desa Sidorejo, Nganjuk). *Jurnal Pengabdian Masyarakat*. 5(1), 2685-9882.
- Ryan, K. J. (2018). *Sherris Medical Microbiology* (7th editio). New York: McGraw-Hill.
- Safitri AU (2016) Aktivitas Antibiotik Nanopartikel Kitosan Berbasis Cangkang Lobster terhadap Bakteri. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. FPIK IPB. Bogor.

- Sapara, T. U., & Waworuntu, O. (2016). Efektivitas Antibiotik Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) I *Porphyromonas gingivalis*. 5(4), 10–17.
- Selviana., Trisnawati, E., Munawarah, S. (2017). Faktor-faktor Yang Berhubungan dengan Kejadian Diare Pada Anak Usia 4-6 Tahun. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 3(1), 28-34.
- Setiawan, N. C. E., & Widiyanti, A. I. (2018). Efektivitas Antibiotik Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Journal Cis-Trans*, 2(1), 2549-6573.
- Shihab, Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Vol.10. Jakarta: Lentera Hati
- Silviani, Y., & Utomo, L. B. (2017). Efektivitas Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. *Biomedika*, 10(1), 12–18. <https://doi.org/10.31001/biomedika.v10i1.219>
- Siregar, A.F., Sabdono, A., dan Pringgenies, D. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *J. of Marine Research* 1(2): 152-160.
- Sunarto H. 1991. *Budidaya Melinjo dan Usaha Produksi Emping*. Yogyakarta. Kanisius; 13-8
- Supiana, H. (2022). Diare dan Penggunaan Obat Tradisionalnya di Indonesia: Suatu Kajian Literatur. *Journal of Village and Local Community*, 1(1), 37-46.
- Suryani, E., & Zulkarnain, Z. (2021). inventarisasi dan karakterisasi melinjo (*Gnetum gnemon*) di kota solok. *Menara Ilmu: Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah*, 15(2).
- Syarifuddin, A., Ramadani, L., Pranata, C., Situmorang, N. B., Octora, D. D. (2023). Sosialisasi Pemanfaatan Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(1).
- Tampubolon, W. (2013). *Informasi Singkat Benih*. Direktorat Pembenuhan Tanaman Hutan. Makassar: BPTH Sulawesi.
- Talaro, K. P., & Chess, B. (2002). *Foundation in Microbiology* (Fourth Edi). New York: McGraw-Hill.
- Talaro, K. P., & Chess, B. (2015). *Foundations in Microbiology* (Ninth Edit). New York: McGraw-Hill.
- Tarigan, I. L., Muadifah, A., Amini, H. W., & Astutik, T. K. (2019). Studi aktivitas ekstrak etanol dan sediaan gel daun melinjo (*Gnetum gnemon* L) sebagai

- antibakteri terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Chempublish Journal*, 4(2), 89-100.
- Taroreh, T. N. C., Rumampuk, J. F., Siagian, K. V. (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5(3).
- Thai, T.; Salisbury, B.H.; Zito, P.M. (2021). *Ciprofloxacin*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- Todar, K. (2005). *Online Textbook of Bacteriology*. Madison: University of Wisconsin.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. (2010). *Microbiology an Introduction* (Tenth Edit). San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.
- Trisha, M. R., Gunawan, V. D., Wong, J. X., Dek, M. S. P., Rukayadi, Y. (2024). Antibacterial Effect of Ethanolic *Gnetum gnemon* L. Leaf Extract on Food-borne Pathogens and Its Application as a Natural Preservative on Raw Quail Eggs. *Journal Heliyon*. 10.
- Vance-Bryan, K., Guay, D. R. P., & Rotschafer, J. C. (1990). Clinical Pharmacokinetics of Ciprofloxacin. *Clinical Pharmacokinetics*, 19(6), 503– 503.
- Wahyudi, D., Silviani, Y., Nirwana, A. P., Saroh, D. (2024). Deteksi Gen Resisten Kloramfenikol (cat) pada Isolat Klinik *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Sciscitatio*. 5(1). 10-19.
- Waluyo, L. (2010). *Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*. UMM Press, Malang.
- Wicaksono, I. B., & Ulfah, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *Inovasi Teknik Kimia*, 2(1), 44–48.
- Williams, P. C., Isaacs, D., & Berkley, J. A. (2018). Antimicrobial resistance among children in sub-Saharan Africa. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(2), e33-e44.
- Williams, P., & Berkley, J. (2016). Dysentery (shigellosis) current who guidelines and the WHO essential medicine list for children. *World Health Organization*, 33, 6\_paed\_antibiotics\_appendix5\_dysentery.
- Wulandari, P., Suswati, E., Misnawi, & Rianul, A. (2012). Antibacterial Effect of Ethanol Extract Cocoa Beans (*Theobroma cacao*) on Growth in Vitro by *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Medika Planta*, 1(5), 67–75

- Wulansari, E. D., Lestari, D., Khoirunissa, M. A. (2020). Kandungan Terpenoid dalam Daun Ara (*Ficus carica* L.) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pharmacon*. 9(2)).
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2015). Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. *Current medicinal chemistry*, 22(1), 132-149.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar radikal bebas dan antioksidan*. Deepublish.
- Yusriani, Ermawati, & Dewi, R. (2018). Uji Daya Hambat Krim Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kesehatan*, 2
- Zein, U., Sagala, K. H., & Ginting, J. (2004). Diare Akut Disebabkan Bakteri. *E- USU Repository. Universitas Sumatera Utara*, 1–15.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

**LAMPIRAN****Lampiran 1. Rancangan Penelitian**

## Lampiran 2. Rumus-rumus

### 2.1 Penentuan Ulangan

$$t(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19$$

$$n \geq 4.75$$

### 2.2 Rendeman

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat bahan yang di ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Berat Ekstrak} = \text{Berat isi total} - \text{Berat wadah kosong}$$

$$= 143 \text{ gram} - 99 \text{ gram}$$

$$= 44 \text{ gram}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat bahan yang di ekstrak}} \times 100\%$$

$$= \frac{44 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 44\%$$

### 2.3 Pengenceran

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$100\% \cdot x = 40\% \cdot 2 \text{ mL}$$

$$x = \frac{40\% \cdot 2 \text{ mL}}{100\%}$$

$$x = 0,8 \text{ gr/ML}$$

#### 2.4 Diameter Zona Hambat

Diameter Zona Hambat (mm) = Diameter keseluruhan yang terbentuk (mm) -  
Diameter kertas cakram (mm)

$$\begin{aligned}\text{Diameter Zona Hambat} &= 18,56 \text{ mm} - 6 \text{ mm} \\ &= 12,56 \text{ mm}\end{aligned}$$

#### 2.5 Rumus *Total Plate Count*

$$\Sigma_{\text{sel}} = \Sigma_{\text{koloni}} \times \frac{1}{fp}$$

$$\Sigma_{\text{sel}} = 129 \times \frac{1}{1/200}$$

$$= 25,800 \text{ CFU/mL}$$

$$= 2,58 \times 10^4 \text{ CFU/mL}$$

### Lampiran 3. Diameter Zona Hambat

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Kategori Zona Hambat
	1	2	3		
Kontrol negatif	0	0	0	0,00	Tidak ada
Kloramfenikol	4	3,5	5,5	4,33	Lemah
40%	11,5	10,5	9	10,33	Kuat
60%	12,5	12	7,5	10,67	Kuat
80%	12	14,5	13,5	13,33	Kuat
100%	13,5	15,5	12	13,67	Kuat
Kontrol positif	24,5	21,5	22,5	22,83	Sangat Kuat

Keterangan: K+: Ciprofloxacin, K-: DMSO

#### Lampiran 4. Uji Normalitas Data Zona Hambat

##### Tests of Normality

Konsentrasi		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	Kontrol Negatif		3			3	
	Ciprofloxacin	0.253	3		0.964	3	0.637
	Kloramfenikol	0.292	3		0.923	3	0.463
	40%	0.219	3		0.987	3	0.780
	60%	0.353	3		0.824	3	0.174
	80%	0.219	3		0.987	3	0.780
	100%	0.204	3		0.993	3	0.843

a. Lilliefors Significance Correction

#### Lampiran 5. Uji Homogenitas Data Zona Hambat

##### Test of Homogeneity of Variances

Diameter		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	Based on Median	0.543	6	14	0.767
	Based on Median and with adjusted df	0.543	6	4.89 2	0.760
	Based on trimmed mean	2.370	6	14	0.086

#### Lampiran 6. Uji ANOVA

##### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	954.310	6	159.052	64.543	0.000
Within Groups	34.500	14	2.464		
Total	988.810	20			

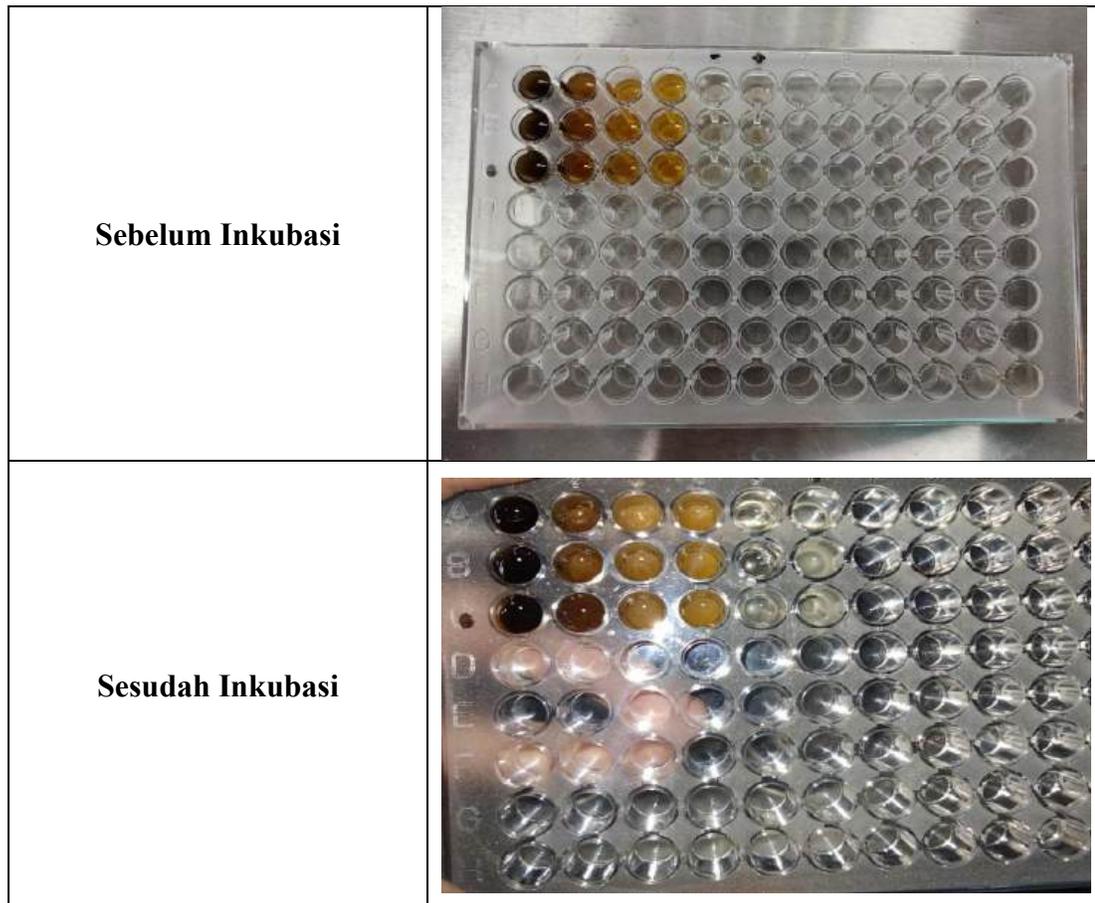
### Lampiran 7. Uji lanjutan Beda Nyata Terkecil (BNT) Tukey

#### Diameter

Konsentrasi		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD <sup>a</sup>	Kontrol Negatif	3	0.000		
	Kloramfenikol	3	4.333		
	40%	3		10.333	
	60%	3		10.667	
	80%	3		13.333	
	100%	3		13.667	
	Ciprofloxacin	3			22.833
	Sig.		0.053	0.198	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Lampiran 8. Gambar dan Data Hasil Uji Microdilution Tube****Keterangan:**

A1, B1, C1: Konsentrasi 60%

A2, B2, C2: Konsentrasi 30%

A3, B3, C3: Konsentrasi 15%

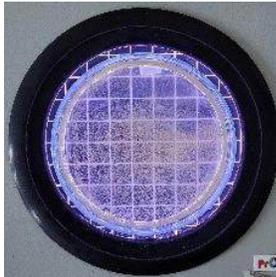
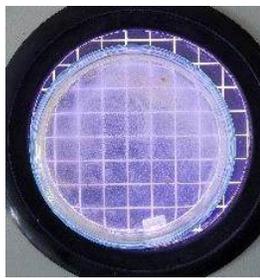
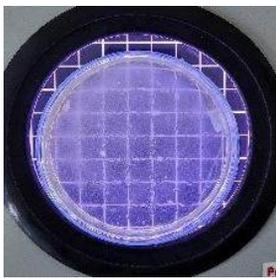
A4, B4, C4: Konsentrasi 7,5%

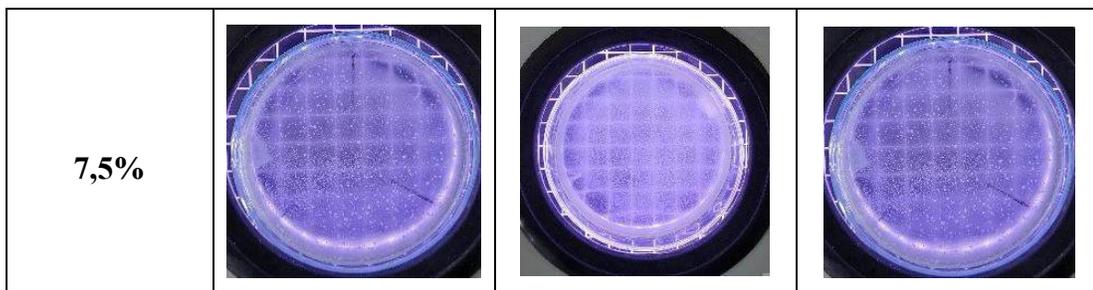
A5, B5, C5: Kontrol Positif

A6, B6, C6: Kontrol Negatif

**Lampiran 9. Data *Total Plate Count***

Konsentrasi	Ulangan		
	1	2	3
60%	0	0	0
30%	6	91	32
15%	30	59	167
7,5%	TBUD	TBUD	TBUD

Konsentrasi	Ulangan		
	1	2	3
60%			
30%			
15%			



## Lampiran 10. Gambar Dokumentasi Penelitian

### Proses ekstraksi

 <p>Penimbangan simplisia daun melinjo</p>	 <p>Perendaman simplisia daun melinjo dalam etanol 70%</p>	 <p>Diaduk sampel sampai homogen, kemudian didiamkan selama 72 jam</p>
 <p>Proses penyaringan filtrat menggunakan kertas saring whatman No. 41 dengan alat <i>Vacum evaporator</i></p>	 <p>Proses penguapan filtrat menggunakan <i>Rotary vacum evaporator</i></p>	 <p>Ekstrak kental daun melinjo</p>
 <p>Pengeringan ekstrak kental daun melinjo menggunakan oven</p>	 <p>Rendaman yang dihasilkan</p>	 <p>Penyimpanan ekstrak daun melinjo dalam botol yang dilapisi dengan aluminium foil dalam <i>freezer</i></p>

## Uji Aktivitas Antimikroba

 <p>Persiapan media uji</p>	 <p>Sterilisasi alat dan media dalam autoklaf</p>	 <p>Isolat murni <i>Shigella dysenteriae</i></p>
 <p>Pembuatan suspense mikroba uji</p>	 <p>Pengujian suspense bakteri dengan alat Spektrofotometer</p>	 <p>Inokulasi suspense mikroba uji di permukaan media</p>
 <p>Penanaman kertas cakram diatas media uji</p>	 <p>Uji konsentrasi hambat minimum</p>	 <p>Uji konsentrasi bunuh minimum</p>



Pengukuran diameter zona hambat



Perhitungan jumlah koloni menggunakan *colony counter*



*96-well plate* (kiri), kertas cakram (kanan)

## Lampiran 11. Hasil Identifikasi Asal Mikroorganisme.



AGAVI



agavi lab

**PT. Agritama Sinergi Inovasi**  
 Jl. Sangkuriang No. C-2, Kelurahan Dago,  
 Kecamatan Dago Kota Bandung,  
 Jawa Barat 40135

### INFORMASI PRODUK

Nama Produk	Kultur murni/ Isolat Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>
Kode Strain	ATCC 13313
Kategori	Pathogen
Gram	Negatif
Media	Nutrient Agar (NA)*
Suhu perlambuan optimum	37 °C**
pH perlambuan optimum	6,4 – 7,8
Jenis berdasarkan kebutuhan oksigen	Facultative Anaerob
Jumlah Sel Bakteri	1x10 <sup>8</sup> (0,5McFarland)

**Saran Penggunaan :**

Produk terlebih dahulu diremajakan ke media padat atau media cair yang sesuai dengan keterangan produk di atas\*

**Metode Peremajaan :**

**A. Peremajaan ke media padat (agar)**

1. Ambil 1 ose koloni dari permukaan tabung
2. Goreskan koloni secara zigzag pada permukaan media agar baru yang sesuai dengan keterangan produk di atas\*
3. Inkubasi dengan kondisi suhu dan oksigen yang disertakan pada keterangan produk di atas\*\*. Kultur dikatakan tumbuh dengan baik jika di permukaan media agar baru ditumbuhi koloni berwarna putih
4. Semua tahapan dilakukan secara aseptis

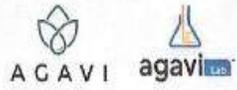
**B. Peremajaan ke media cair**

**Cara 1.**

1. Ambil 1 ose koloni dari permukaan tabung
2. Masukkan koloni ke dalam media cair baru dengan cara menggoyang-goyangkan ose di dalam tabung
3. Inkubasi dengan kondisi suhu dan oksigen yang disertakan pada keterangan produk di atas\*\*. Kultur dikatakan tumbuh dengan baik jika media mengalami kekeruhan
4. Semua tahapan dilakukan secara aseptis

**Cara 2.**

1. Masukkan 3-5 mL aquades steril dalam tabung kultur
2. Kocok perlahan sampai semua koloni putih di permukaan tabung terlarut dalam aquades
3. Masukkan aquades yang sudah terisi koloni ke dalam media tumbuh baru yang sesuai dengan keterangan produk di atas\* dengan konsentrasi 10% (v/v)
4. Inkubasi dengan kondisi suhu dan oksigen yang disertakan pada keterangan produk di atas\*\*. Kultur dikatakan tumbuh dengan baik jika media mengalami kekeruhan
5. Semua tahapan dilakukan secara aseptis



PT. Agritama Sinergi Inovasi  
Jl. Sangkurang No. C-2 Kelurahan Dago,  
Kecamatan Dago Kota Bandung,  
Jawa Barat 40135

Terima kasih telah percaya dan berbelanja di Toko kami, semoga project Anda lancar.

Teknisi Laboratorium,

A handwritten signature in black ink is written over a circular stamp. The stamp contains the 'AGAVI' logo and the text 'AGAVI' below it.

Lili Nailufhar, S.Pd, M.Si (cdt.)

Hasil Pewarnaan Gram pada Kultur *Shigella Dysenteriae*  
SD004120824



## Lampiran 12. Lembar Konsultasi

09/12/24, 09:03

: Sistem Informasi Akademik Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang 2.0



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341) 551354, Fax. (0341) 572533  
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: [info@uin-malang.ac.id](mailto:info@uin-malang.ac.id)

### JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

#### IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 200602110087  
Nama : SISKA IRMAYANTI  
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI  
Jurusan : BIOLOGI  
Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si  
Dosen Pembimbing 2 : Dr. H.AHMAD BARIZI,M.A  
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae* PENYEBAB DIARE

#### IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	15 November 2023	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Pengajuan judul penelitian "Isolasi dan Identifikasi Bakteri <i>Salmonella</i> Sp Pada Susu Pasteurisasi Komersial yang Dijual Pedagang Keliling", Tidak disetujui, diganti dengan judul "Potensi Antibakteri Ekstrak Methanol Daun Lempeni ( <i>Ardisia Elliptica</i> ) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella Dysenteriae</i> Penyebab Diare"	Genjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
2	29 Januari 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Konsultasi judul penelitian Potensi Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Lempeni ( <i>Ardisia elliptica</i> ) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> Penyebab Diare.	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
3	08 Februari 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Perubahan objek penelitian dari daun lempeni menjadi daun melinjo, serta mengubah fokus penelitian menjadi uji efektivitas	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
4	11 Maret 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Bimbingan Bab 1, diberikan beberapa masukan serta revisi	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
5	20 Maret 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Bimbingan Bab 2 serta perbaikan Bab 1	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
6	10 April 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Bimbingan bab 3 serta penyempurnaan bab 1&2	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
7	21 Mei 2024	Dr. H.AHMAD BARIZI,M.A	Revisi serta pemberian TTD untuk pendaftaran Seminar Proposal	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
8	02 Oktober 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Konsultasi terkait penelitian, dan penyusunan bab 4	Genjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
9	02 Desember 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Bimbingan dan revisi bab 4, meliputi penyajian data statistik dan pembahasan hasil penelitian	Genjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
10	03 Desember 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Revisi difokuskan pada perbaikan pembahasan, peletakan paragraf yang tepat, dan penulisan yang sesuai	Genjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
11	04 Desember 2024	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si	Revisi dilakukan pada bagian penulisan dan perbaikan isi. Skripsi telah disetujui dan ditandatangani untuk pendaftaran sidang	Genjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
12	04 Desember 2024	Dr. H.AHMAD BARIZI,M.A	Revisi Bab 4 mengenai aktivitas antibakteri ekstrak daun melinjo terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> serta pembahasan terkait perspektif Islam mengenai pengobatan dengan bahan alami. Skripsi telah diberikan tanda tangan untuk pendaftaran sidang	Genjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui  
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

Dr. H.AHMAD BARIZI,M.A

Malang, \_\_\_\_\_

Dosen Pembimbing 1

Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI,M.Si

09/12/24, 08:03



Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang 2.0 Kaprodi;

### Lampiran 13. Lembar Cek Plagiasi



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

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

#### Form Checklist Plagiasi

Nama : Siska Irmayanti  
NIM : 200602110087  
Judul : Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)  
Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Penyebab Diare.

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	18%	

Mengetahui,  
Kepala Program Studi Biologi  
  
Dr. Budiasih Sandi Savitri, M.P.  
NIP. 19741018 200312 2 002