

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK BUNGA  
TELANG (*Clitoria ternatea*) BIRU DAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

**OLEH  
ZISKINO QUROTA A'YUN  
NIM. 220602110053**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2026**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK BUNGA  
TELANG (*Clitoria ternatea*) BIRU DAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

**OLEH  
ZISKINO QUROTA A'YUN  
NIM. 220602110053**

**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  
2026**

## HALAMAN PENGESAHAN

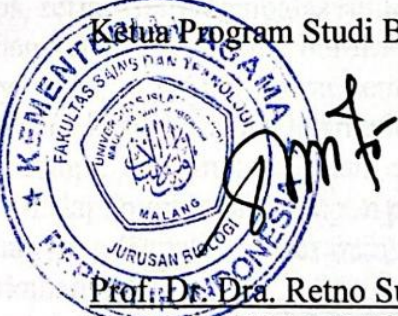
Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Ziskino Qurota A'yun  
NIM : 220602110053  
Program Studi : Biologi  
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji pada tanggal 29 Juni 2026 dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

## DEWAN PENGUJI

|                 |                                                               |                  |
|-----------------|---------------------------------------------------------------|------------------|
| Pembimbing I :  | Fitriyah, M.Si<br>NIP. 19860725 201903 2 013                  | (.....)          |
| Pembimbing II : | Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si<br>NIPPPK. 19870522 202321 1 016 | (.....)          |
| Tim Penguji :   | Ir. Liliek Harianie AR, M.P<br>NIP. 19620901 199803 2 001     | (Ketua) (.....)  |
|                 | Dr. Muhammad Saefi, M.Pd<br>NIP. 19920101 202203 1 002        | (Anggota)(.....) |

Ketua Program Studi Biologi



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

## LEMBAR PERSEMBAHAN

*Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

*Bismillahirrahmanirrahim*, Segala puji bagi Allah *Subhanahu wa Ta'ala* atas limpahan rahmat, karunia, serta ridha-Nya yang tiada terbatas. Berkat taufiq dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Escherichia coli*” sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Shalawat dan salam senantiasa penulis lantunkan kepada *rahmatan lil ‘alamin* Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, dan sahabat beliau yang telah berjuang di jalan Allah sehingga ajaran Islam dapat sampai kepada kita saat ini.

Penulis juga menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, baik bantuan moral, maupun material sehingga penulis dapat menyelesaikan seluruh proses penyusunan skripsi ini. Penulis persembahkan ini kepada:

1. Bapak Muhammad Sali dan Ibu Muji Hartutik, Kakak Muhammad Bachrul Ullum, Alm. Bapak Mu'ardi, dan seluruh keluarga penulis yang telah merawat penulis sejak kecil hingga akhir hayat mereka, serta semua pihak yang telah menggantikan kehadiran orang tua penulis selama menimba ilmu. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas setiap uluran tangan, pelukan, doa, dukungan moral, maupun material yang diberikan. Setiap ilmu dan pencapaian yang diraih penulis tidak terlepas dari ridha, kasih sayang, dan bantuan kalian. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan ampunan, kesehatan, keberkahan, kebahagiaan, serta surga terbaik kepada kalian semua.
2. Ibu Fitriyah, M.Si. selaku dosen pembimbing saya banggakan, yang memberikan arahan, mengajarkan hal-hal yang terkadang penulis lupa untuk mempelajarinya, memudahkan setiap urusan penulis. Ibu tidak hanya dosen bagi saya, tetapi juga sosok ibu yang memberikan ketenangan hati dan pikiran. Semoga setiap ilmu, ketulusan, dan dedikasi yang Ibu berikan menjadi amal jariyah yang tidak pernah terputus, serta Allah membalas seluruh kebaikan Ibu dengan keberkahan, kesehatan, dan kebahagiaan yang berlimpah.
3. Bapak Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si. selaku dosen pembimbing bidang keagamaan yang saya hormati. Terima kasih karena telah membimbing penulis dengan sangat sabar, ramah, tidaklupa dengan tawa, dan candannya, yang membuat penulis tidak takut menghadapi bimbingan maupun proses penelitian. Semoga segala ilmu dan kebaikan yang Bapak berikan menjadi amal jariyah yang senantiasa membawa keberkahan.
4. Bapak Didik Wahyudi, M.Si., selaku dosen wali, yang selalu memberikan arahan, dukungan, saran, serta masukan yang bermakna serta memberikan kehangatan seperti keluarga. Semoga segala hal baik yang telah Bapak berikan kembali dengan segala kemurahan yang Allah SWT limpahkan ke Beliau.
5. Bapak Dr. Muhammad Saefi, M.Pd, dosen mikrobiologi dan integrasi yang sangat saya hormati. Terima kasih atas kesediaan menerima konsultasi dari Penulis, memberi bimbingan, menunjukkan harapan, mengarahkan, dan selalu memberikan hal bermakna yang tidak men-*jugde* atau menjatuhkan mental penulis meskipun terkadang setiap hasil tidak sesuai dengan ketentuan.

6. Seluruh dosen dan laboran di Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan Universitas Islam Malang.
7. Untuk diri penulis sendiri, Ziskino Qurota A'yun, yang berhasil menyelesaikan tugas akhir ini dengan penuh syukur. Terima kasih sudah bertahan sampai di titik ini, berani bertekad mencari jalan untuk merubah kehidupan agar menjadi lebih baik, selalu mengusahakan yang terbaik untuk diri sendiri, berkomitmen untuk lulus di semester ini, melewati naik turunnya emosi, ambisi, dan keberanian.
8. Terima kasih kepada Rizki Sri Lestari, teman hebat dan terkuat Penulis. Sosok perempuan keras yang berdiri di atas kakinya sendiri. Melewati terpaan angin yang begitu kencang sampai terlahir menjadi perempuan kuat, yang selalu optimis dengan pencapaian, dan kokoh pendirian. Terima kasih sudah menjadi perempuan hebat dan selalu mendukung penulis untuk selalu upgrade diri. Semoga selalu dalam perlindungan Allah SWT.
9. Terakhir, terima kasih kepada kak Venya Nabila, kakak tingkat yang selalu memberikan dukungan, arahan, dampingan, meluangkan waktu untuk berdiskusi bersama Penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini tepat waktu. Semoga Allah SWT selalu melindungi kakak dimanapun berada, semoga dilancarkan dan dimudahkan karirnya, semoga ilmu yang kakak berikan menjadi jariyah kakak dan catatan amal baik kakak.

Sekali lagi penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang terlibat. Semoga Allah SWT membalas kebaikan semua pihak yang mengulurkannya. Penulis menyadari skripsi ini jauh dari kata sempurna dan penulis sadar ini adalah proses belajar, namun penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membutuhkan, membaca, khususnya bagi penulis.

## MOTTO

وَأَنْ لَّيْسَ لِلْإِنْسَانِ إِلَّا مَا سَعَى ﴿٣٩﴾

*Artinya : “bahwa manusia hanya memperoleh apa yang telah diusahakannya.”*

(Q.S. An Najm [53] : 39)

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ziskino Qurota A'yun  
NIM : 220602110053  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga  
Telang (*Clitoria ternatea*) Biru dan Jeruk Nipis  
(*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan  
*Escherichia coli*

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 Juni 2026

Yang membuat pernyataan,



Ziskino Qurota A'yun  
NIM. 220602110053

## **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.

**Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Biru dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli***

Ziskino Qurota A'yun, Fitriyah, Muhammad Asmuni Hasyim

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

**ABSTRAK**

*Escherichia coli* (ATCC 25922) merupakan salah satu agen kontaminan umum penyebab diare dan telah banyak dilaporkan karena tingkat resistensi yang tinggi. Bunga telang merupakan tanaman herbal yang kaya akan senyawa metabolit sekunder seperti antioksidan. Selain itu, jeruk nipis memiliki kandungan asam askorbat, minyak atsiri, serta senyawa metabolit sekunder lain yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri alami dari kombinasi senyawa ekstrak bunga telang dan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *E. coli*. Metode penelitian yang digunakan yaitu 5 perlakuan dan 3 kali ulangan, meliputi P1-P5 dengan kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis secara berturut-turut yaitu 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, 100% ekstrak bunga telang, dan 100% ekstrak jeruk nipis. Ekstraksi sampel menggunakan etanol analisis 70% dengan metode maserasi selama 24 jam. Parameter yang digunakan yaitu uji zona hambat dan KHM/MIC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak yang menghasilkan zona hambat terbesar yaitu pada P1 (25%T:75%J) dengan rata-rata zona hambatnya  $10,17 \pm 1,89$  mm. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menunjukkan bahwa konsentrasi minimum kombinasi ekstrak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* yaitu pada P1 pengenceran ke empat atau konsentrasi ekstrak 3,125% karena larutan berwarna jernih dan tidak ada endapan yang menunjukkan bakteri tidak tumbuh. Sehingga diduga kombinasi ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terbaik pada konsentrasi ekstrak berturut-turut 25% : 75% dengan penambahan dominasi ekstrak *Citrus aurantifolia*.

**Kata kunci:** antibakteri, antosianin, diare, *Escherichia coli*, KHM

**Antibacterial Activity Test of Combined Extracts of Blue Butterfly Pea  
(*Clitoria ternatea*) and Lime (*Citrus aurantifolia*) against the Growth of  
*Escherichia coli***

Ziskino Qurota A'yun, Fitriyah, Muhammad Asmuni Hasyim

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

**ABSTRACT**

*Escherichia coli* (ATCC 25922) is one of the most common contaminants causing diarrhea and has been widely reported due to its high resistance levels. *Clitoria ternatea* is an herbal plant rich in secondary metabolites such as antioxidants. In addition, lime contains ascorbic acid, essential oils, and other secondary metabolites that have potential antibacterial properties. This study aims to determine the potential natural antibacterial activity of a combination of *Clitoria ternate* flower and *Citrus aurantifolia* extracts against *E. coli* growth. The research design consisted of 5 treatments and 3 replicates, ranging from P1 to P5 with the following combinations of *Citrus aurantifolia* flower and *Citrus aurantifolia* extracts, respectively: 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, 100% *Clitoria ternatea* flower extract, and 100% *Citrus aurantifolia* extract. Sample extraction was performed using 70% analytical ethanol by the maceration method for 24 hours. The parameters used were the inhibition zone test and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The results showed that the extract combination producing the largest inhibition zone was P1 (25%T:75%J), with an average inhibition zone of  $10.17 \pm 1.89$  mm. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test showed that the minimum concentration of the extract combination could inhibit the growth of *Escherichia coli*, specifically at the fourth dilution of P1 or an extract concentration of 3.125%, as the solution was clear and contained no sediment, indicating that the bacteria did not grow. Therefore, it is hypothesized that the combination of *Clitoria ternatea* and *Citrus aurantifolia* extracts exhibits the best antibacterial activity at extract concentrations of 25% : 75% (treatment 1), with a predominance of *Citrus aurantifolia* extract.

**Keyword:** antibacterial, anthocyanin, diarrhea, *Escherichia coli*, MIC

اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات مركبة من الفاصوليا الزرقاء (*Clitoria ternatea*) والليمون (*Citrus aurantifolia*) ضد نمو بكتيريا الإشريكية القولونية

زيكينو قرة أعيون، فطرية، محمد أسموني هاشم

برنامج دراسة علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج

### ملخص البحث

الإسهال هو حالة تتكرر فيها التبرز أكثر من ثلاث مرات في اليوم، ويكون البراز أكثر سيولة أو رقة من المعتاد. تعد بكتيريا الإشريكية القولونية أحد العوامل الملوثة الشائعة المسببة للإسهال، وقد تم الإبلاغ عنها كثيرًا بسبب مستويات مقاومتها العالية. زهرة (*Escherichia coli*) التيلانج هي نبات عشبي غني بمركبات الأيض الثانوية مثل مضادات الأكسدة. بالإضافة إلى ذلك، يحتوي الليمون الحامض على حمض الأسكوربيك والزيوت العطرية ومركبات الأيض الثانوية الأخرى التي يمكن أن تكون مضادة للجراثيم. تهدف هذه الدراسة إلى معرفة النشاط المضاد للجراثيم الطبيعي المحتمل لمزيج مستخلص زهرة التيلانج والليمون الحامض على نمو الإشريكية القولونية. طريقة البحث المستخدمة هي 5 معالجات و3 مزيج من مستخلص زهرة التيلانج والليمون الحامض بالتتابع وهي 25%:75%، 50%:50%، 75%:25%، P1-P5 تكرارات، تشمل 100% مستخلص زهرة التيلانج، و100% مستخلص الليمون الحامض. تم استخلاص العينات باستخدام الإيثانول التحليلي بنسبة 70% أظهرت النتائج أن تركيبة KHM/MIC. بطريقة النقع الكلي لمدة 24 ساعة. المعلومات المستخدمة هي اختبار منطقة تثبيط واختبار متوسط منطقة شفافية يبلغ  $10,17 \pm 89,1$  مم. أظهر اختبار (J: 75% T: 25%) P1 المستخلصات التي أنتجت أكبر منطقة تثبيط هي أن التركيز الأدنى لمزيج المستخلصات يمكنه تثبيط نمو الإشريكية القولونية، وذلك عند التخفيف الرابع أو تركيز المستخلص MIC أو KHM 3,125% مع محلول يبدأ في الظهور

الكلمات المفتاحية: مضاد للجراثيم، أنثوسيانين، إسهال، الإشريكية القولونية، الحد الأدنى لمثبط النمو

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

*Bismillahirrohmaanirrohiim*, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Biru dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*". Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan diinul Islam yang terpatri hingga akhirul zaman. Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Ilfi Nur Diana, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. H. Agus Mulyono, S.Pd., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Dra. Hj. Retno Susilowati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Fitriyah, M.Si. dan Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si. selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Didik Wahyudi, M.Si. selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi 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 penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
7. Ayah, Ibu, dan keluarga tercinta yang telah memberikan Doa, dukungan, serta motivasi kepada penulis.
8. Laboran Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Malang yang telah membantu mendampingi selama melakukan penelitian di Laboratorium.
9. Teman-teman seperjuangan Biologi dan teman-teman seperjuangan di Laboratorium.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, sehingga diharapkan dapat menjadi tambahan referensi dan informasi pada penelitian selanjutnya.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

## DAFTAR ISI

|                                                                                                 |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| HALAMAN JUDUL .....                                                                             | ii        |
| HALAMAN PENGESAHAN .....                                                                        | iii       |
| LEMBAR PERSEMBAHAN .....                                                                        | iv        |
| MOTTO .....                                                                                     | vi        |
| PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....                                                               | vii       |
| PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....                                                                | viii      |
| ABSTRAK .....                                                                                   | ix        |
| ABSTRACT .....                                                                                  | x         |
| ملخص البحث .....                                                                                | xi        |
| KATA PENGANTAR.....                                                                             | xii       |
| DAFTAR ISI.....                                                                                 | xiii      |
| DAFTAR TABEL .....                                                                              | xv        |
| DAFTAR GAMBAR.....                                                                              | xvi       |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                                                           | xvii      |
| DAFTAR SINGKATAN.....                                                                           | xviii     |
| <br>                                                                                            |           |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                                                                   | <b>1</b>  |
| 1.1 Latar Belakang.....                                                                         | 1         |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                                                                        | 10        |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....                                                                      | 10        |
| 1.4 Manfaat Penelitian.....                                                                     | 10        |
| 1.5 Batasan Masalah .....                                                                       | 11        |
| <br>                                                                                            |           |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                                                             | <b>12</b> |
| 2.1 Bakteri .....                                                                               | 12        |
| 2.2 <i>Escherichia coli</i> .....                                                               | 15        |
| 2.2.1 Klasifikasi .....                                                                         | 15        |
| 2.2.2 Definisi.....                                                                             | 15        |
| 2.2.3 Mekanisme Patogenesis <i>E. coli</i> pada Usus Manusia .....                              | 16        |
| 2.3. Antibakteri .....                                                                          | 18        |
| 2.3.1. Definisi .....                                                                           | 18        |
| 2.3.2. Mekanisme Kerja Antibiotik .....                                                         | 20        |
| 2.4. Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea</i> ).....                                             | 23        |
| 2.5. Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) .....                                           | 24        |
| 2.6. Metode Uji.....                                                                            | 27        |
| 2.6.1. Uji Daya Hambat (Metode Difusi) .....                                                    | 27        |
| 2.6.2. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (MIC atau <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> ).....  | 29        |
| 2.6.3. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (MBC atau <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> )..... | 30        |
| 2.7 Hipotesis .....                                                                             | 31        |
| <br>                                                                                            |           |
| <b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>                                                          | <b>32</b> |
| 3.1 Rancangan Penelitian .....                                                                  | 32        |
| 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....                                                            | 33        |
| 3.3 Alat dan Bahan .....                                                                        | 33        |
| 3.4 Prosedur Penelitian .....                                                                   | 34        |

|                                                                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.5 Analisis Data.....                                                                                                                     | 39        |
| <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                                                                                                   | <b>40</b> |
| 4.1 Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak <i>Clitoria ternatea</i> dan <i>Citrus aurantifolia</i> terhadap <i>Escherichia coli</i> ..... | 40        |
| 4.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....                                           | 50        |
| <b>BAB V PENUTUP .....</b>                                                                                                                 | <b>61</b> |
| 5.1 Kesimpulan.....                                                                                                                        | 61        |
| 5.2 Saran .....                                                                                                                            | 61        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                                                                                                | <b>63</b> |
| <b>LAMPIRAN-LAMPIRAN .....</b>                                                                                                             | <b>70</b> |

## DAFTAR TABEL

|                  |                                                                                                                                  |    |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabel 2.1</b> | Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri                                                                                  | 28 |
| <b>Tabel 4.1</b> | Hasil Uji Antibakteri Kombinasi Ekstrak <i>Clitoria ternatea</i> dan <i>Citrus aurantifolia</i> terhadap <i>Escherichia coli</i> | 41 |
| <b>Tabel 4.2</b> | Tingkat Kekeruhan Hasil Uji MIC secara Visual atau Kualitatif                                                                    | 51 |
| <b>Tabel 4.3</b> | Nilai Rata-Rata Absorbansi MIC                                                                                                   | 52 |

## DAFTAR GAMBAR

|                   |                                                             |    |
|-------------------|-------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gambar 2.1</b> | Mekanisme patogenesis ETEC di usus                          | 18 |
| <b>Gambar 2.2</b> | Mekanisme <i>B-laktam</i> dalam melisiskan bakteri          | 21 |
| <b>Gambar 2.3</b> | Mekanisme glikopeptida dalam melisiskan bakteri             | 21 |
| <b>Gambar 2.4</b> | Mekanisme kerja daptomisin                                  | 21 |
| <b>Gambar 2.5</b> | Mekanisme kerja colistin                                    | 22 |
| <b>Gambar 2.6</b> | Morfologi bunga telang ( <i>Clitoria ternatea</i> )         | 23 |
| <b>Gambar 3.1</b> | Rumusan perhitungan zona hambat uji antibakteri             | 37 |
| <b>Gambar 4.1</b> | Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram disc. | 41 |
| <b>Gambar 4.2</b> | Hasil uji MIC                                               | 51 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                    |                        |    |
|--------------------|------------------------|----|
| <b>Lampiran 1.</b> | Hasil pengolahan data  | 70 |
| <b>Lampiran 2.</b> | Uji analisis SPSS      | 75 |
| <b>Lampiran 3.</b> | Dokumentasi Penelitian | 77 |

## DAFTAR SINGKATAN

| Simbol/Singkat   | Keterangan                                                 |
|------------------|------------------------------------------------------------|
| WHO              | <i>World Health Organization</i>                           |
| pH               | <i>Potential of Hydrogen</i>                               |
| KHM              | Konsentrasi Hambat Minimum                                 |
| KBM              | Konsentrasi Bunuh Minimum                                  |
| DMSO             | <i>Dimetil Sulfoksida</i>                                  |
| SCFAs            | <i>Short-Chain Fatty Acids</i>                             |
| ATP              | Adenosine Triphosphate                                     |
| Mm               | Mikrometer                                                 |
| EMBA             | Eosin Methylene Blue Agar                                  |
| ETEC             | <i>Enterotoxigenic E. coli</i>                             |
| EIEC             | <i>Enteroinvasive E. coli</i>                              |
| EPEC             | <i>Enteropathogenic E. coli</i>                            |
| EHEC             | <i>Enterohemorrhagic E. coli</i>                           |
| EAEC             | <i>Enteraggregative E. coli</i>                            |
| AMP              | Adenosina Monofosfat Siklik                                |
| GTPase           | Guanosin Triphosphatase                                    |
| CFTR             | <i>Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator</i> |
| Cl               | Klorida                                                    |
| cGMP             | <i>Cyclic Guanosine Monophosphate</i>                      |
| ISK              | Infeksi Saluran Kemih                                      |
| DNA              | <i>Deoxyribonucleic Acid</i>                               |
| RNA              | <i>Ribonucleic Acid</i>                                    |
| PBP              | <i>Penicillin-Binding Proteins</i>                         |
| Ca <sup>2+</sup> | Ion Kalsium                                                |
| Mg <sup>2+</sup> | Ion Magnesium                                              |
| tRNA             | Transfer Asam Ribonukleat                                  |
| mRNA             | Messenger Asam Ribonukleat                                 |
| Mm               | Milimeter                                                  |
| °C               | Derajat Celcius                                            |
| %                | Persen                                                     |
| K(+)             | Kontrol Positif                                            |
| K(-)             | Kontrol Negatif                                            |
| P1               | Perlakuan 1                                                |
| P2               | Perlakuan 2                                                |
| P3               | Perlakuan 3                                                |
| P4               | Perlakuan 4                                                |
| P5               | Perlakuan 5                                                |
| LAF              | <i>Laminar Air Flow</i>                                    |
| NA               | <i>Nutrient Agarose</i>                                    |

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Diare merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya infeksi pada saluran pencernaan serta menjadi penyakit yang paling umum menginfeksi masyarakat (Surapati & Gautama, 2022). Menurut *World Health Organization* (WHO) (2024), diare didefinisikan sebagai suatu kondisi dimana intensitas keluar feses lebih dari tiga kali dalam sehari dengan konsistensi yang lebih cair atau encer dibandingkan biasanya. Penyebaran infeksi akibat diare relatif cepat dan luas, bahkan penyakit ini termasuk ke dalam lima besar kategori penyakit dengan tingkat infeksi tertinggi di dunia serta berpotensi menyebabkan angka kematian yang signifikan. Tahun 2020, diare menjadi penyebab kematian balita terbanyak kedua setelah pneumonia di peringkat pertama dan diikuti dengan demam berdarah di posisi ketiga (Kementerian Kesehatan RI, 2021; Kire dkk, 2025).

Menurut Data WHO tahun 2024 bahwa terdapat sekitar 1,7 miliar kasus penyakit diare yang terjadi pada anak-anak di seluruh dunia (balita) sehingga mengakibatkan kematian sebanyak 443.832 anak setiap tahunnya, dan 50.851 kasus pada anak usia 9 tahun. Menurut studi *Global Burden of Disease* yang diterbitkan oleh *Institute for Health Metrics* (IHME) tahun 2024 ditunjukkan data statistik bahwa terjadi penurunan kasus *Diarrheal diseases* yang menyebabkan kematian setiap tahunnya sampai pada tahun 2021 menjadi 340.429 kasus dan diperkirakan akan terus mengalami penurunan seiring berkembangnya kualitas hidup. Meskipun diperkirakan akan mengalami penurunan seiring bertambah tahun, diare termasuk 10 besar penyakit yang berbahaya dan harus diwaspadai karena tingkat penularan infeksiya relatif cepat dan mudah pada semua tingkatan usia. Menurut data

Kementerian Kesehatan RI, prevalensi diare pada balita adalah 37,88% atau sekitar 1.516.438 kasus, dimana frekuensinya meningkat menjadi 40% atau sekitar 1.591.944 kasus pada anak balita (Zulichah dkk, 2024). Balita menjadi salah satu kelompok rentan mengalami diare karena perkembangan sistem pencernaan dan kekebalan tubuhnya belum optimal sehingga lebih mudah terserang diare (Surkesnas, 2011).

Menurut Alby & Nachamkin (2016) individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah berpotensi mengalami diare akibat infeksi oleh berbagai agen patogen, seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit. Agen-agen patogen tersebut dapat mengkontaminasi makanan atau minuman yang dikonsumsi, kemudian masuk ke dalam saluran pencernaan dan menimbulkan gangguan pada sistem pencernaan. Di antara berbagai agen penyebab infeksi, bakteri merupakan salah satu penyebab utama infeksi pada saluran pencernaan (Alby & Nachamkin, 2016).

Bakteri dapat tumbuh dan berkembang biak pada saluran pencernaan terutama usus karena organ ini merupakan tempat tinggal komunitas mikroba terbesar dalam tubuh manusia yang disebut dengan mikrobiota atau flora usus. Saluran pencernaan memiliki lingkungan yang hangat, lembab, dan kaya nutrisi, sehingga sangat cocok untuk pertumbuhan bakteri. Hal ini memungkinkan bakteri kontaminan yang terbawa saat mengonsumsi makanan atau minuman dapat masuk melalui saluran pencernaan dan merusak sel epitel usus. Bakteri yang masuk sampai usus halus akan merusak jaringan epitel di usus. Kemudian sel epitel muda akan meregenerasi sel epitel yang rusak dan terjadi penurunan fungsi sel. Vili pada usus akan mengalami atrofi sehingga kesulitan dalam menyerap makanan dan minuman. Tekanan osmotik pada usus akan meningkat seiring tidak terserapnya makanan dan

minuman sehingga banyak cairan dari saluran pencernaan yang terserap ke usus (Zulichah dkk, 2024).

*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang ditemukan sebagai flora normal pada saluran cerna manusia maupun hewan, namun kedua bakteri tersebut dapat menjadi patogen ketika jumlahnya melebihi batas normal dan sistem imun inang yang menurun (Erikawati dkk, 2016). *E. coli* strain patogenik merupakan salah satu bakteri penyebab diare yang umum pada manusia, dimana dapat masuk ke dalam tubuh manusia karena mengkontaminasi makanan atau minuman yang dikonsumsi (Mayanti dkk, 2023).

*Escherichia coli* merupakan kelompok bakteri Gram negatif yang secara alami berada pada saluran pencernaan manusia, feses hewan, dan manusia. *E. coli* memiliki beberapa peran sebagai mikrobiota dalam usus yang membantu dalam proses pencernaan dan pembusukan sisa-sisa makanan di dalam usus besar, serta dapat membantu produksi vitamin K yang berperan dalam pembekuan darah ketika terjadi pendarahan (Kurniawan & Susilowati, 2021). Mikroorganisme ini berada dalam biofilm yang terdiri dari komunitas mikroba kompleks di dalam lapisan lendir, tempat *E. coli* harus bersaing untuk mendapatkan nutrisi terbatas yang dibutuhkannya agar dapat tumbuh cepat untuk berkoloni secara stabil. Bakteri ini bergantung pada degradasi glikoprotein kompleks oleh anaerob yang ketat untuk memperoleh gula sederhana dan asam amino yang dibutuhkannya. *E. coli* yang ikut masuk ke dalam saluran cerna bersamaan dengan konsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh bakteri ini akan menghadapi beberapa keadaan di setiap organ pencernaan (Conway & Cohen, 2015).

*Escherichia coli* akan menghadapi cekaman keasaman pada saluran pencernaan sehingga dapat mengancam keberadaannya. Bakteri ini akan menginduksi sistem resistensi asam yang protektif pada fase stasioner sehingga kemungkinan diantaranya dapat bertahan di saluran cerna (Foster, 2004). *E. coli* dapat ditularkan oleh sedikitnya sepuluh sel bakteri. Saat *E. coli* mampu mencapai usus besar, bakteri ini akan mencari nutrisi untuk pertumbuhan (fase log) dan memperbanyak diri. *E. coli* akan berkompetisi dengan mikrobiota yang ada di usus, penetrasi lendir, menghindari pertahanan inang, sehingga memungkinkan berkoloni dengan usus besar. Adanya kompetisi tersebut memungkinkan adanya eliminasi bakteri ini (Freter *et al*, 1983; Conway & Cohen, 2015).

*E. coli* berada dalam lapisan lendir sampai terkelupas ke dalam lumen usus, kemudian ada beberapa sel yang dikeluarkan bersama feses inangnya kemudian siklus berulang (Conway & Cohen, 2015). *E. coli* yang masih berada di organ pencernaan dan menyebabkan ketidakseimbangan bakteri dalam organ cerna dapat menimbulkan permasalahan serius jika tidak ditangani. Salah satu upaya untuk mengatasi adanya infeksi bakteri ini di saluran pencernaan, mendorong berkembangnya suatu pengobatan medis yaitu antibiotik.

Antibiotik merupakan zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri, organisme eukariotik, jamur, dan tanaman yang memiliki fungsi untuk membunuh ataupun menghambat pertumbuhan patogen. Namun, ketidaktepatan penggunaan antibiotik dapat menyebabkan berbagai macam resiko seperti terjadinya resistensi antibiotik (Syafriadah, 2022). Resistensi antibiotik adalah suatu kondisi ketika mikroba penyebab infeksi tidak dapat terbunuh dengan menggunakan antibiotik (Aji, 2020). Resistensi bakteri terjadi melalui mekanisme dengan mensintesis enzim

penghancur antibiotik, merubah permeabilitas terhadap antibiotik, merubah struktur sasaran antibiotik, dan merubah jalur metabolisme (Mao *et al*, 2019). Penggunaan antibiotik telah menjadi permasalahan kesehatan dunia saat ini. *The Centers for Disease Control and Prevention* menunjukkan bahwa resistensi antibiotik menyebabkan lebih dari 2 juta penyakit dan sekitar 23.000 kematian di Amerika Serikat (CDC, 2017).

Resistensi antibiotik telah banyak dilaporkan terutama bakteri golongan *Enterobacteriaceae* termasuk *Escherichia coli*. Tingginya resistensi pada golongan ini dapat menyebabkan adanya gen transfer antar bakteri. Transfer gen secara horisontal dapat terjadi antara strain bakteri yang berbeda secara taksonomi dan antar kingdom. Sifat resistensi yang ditransfer secara horisontal seperti plasmid, dapat dipindahkan dari bakteri donor seperti *Escherichia coli* ke bakteri resipien *Salmonella* sp., sehingga menyebabkan bakteri tersebut menjadi resisten terhadap antibiotik tertentu (Palupi dkk, 2018). Adanya permasalahan tersebut mendorong dilakukannya eksplorasi antibakteri alternatif berbahan alami, seperti pemanfaatan senyawa kimia dari tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri salah satunya dari bunga telang (*Clitoria ternatea*).

Allah SWT berfirman dalam Al Quran Surah Asy-Syu'ara ayat 7 tentang kebesaran Allah SWT dalam menciptakan segala macam tumbuhan yang baik, yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Ash Shu'ara [26]: 7)

Tafsir Kemenag (2019) menjelaskan bahwa Allah SWT kemudian mengajak mereka untuk belajar dari alam seluruh, agar mereka tahu bahwa hanya Allah saja yang berhak untuk disembah. Dan apakah mereka yaitu orang musyrik itu tidak memperhatikan apa yang mereka lihat di hamparan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan tumbuh-tumbuhan yang baik? [Ash Shu'ara":7]. Darimana ditumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang baik tersebut jika tidak ada Yang Maha Menghidupkan (Allah SWT). Tumbuhan dengan berbagai karakteristik, manfaat, dan kemampuan dalam mempertahankan keberlangsungan hidupnya sesungguhnya hal itu tidak dapat terjawab dengan batas akal manusia.

Tafsir Fathul Qadir menjelaskan bahwa makna “*zauji*” adalah macam dan “*Kariim*” adalah baik dan mulia. Maknanya adalah berbagai macam tumbuhan yang bermanfaat yang tidak ada yang mampu menumbuhkannya kecuali Tuhan Semesta Alam. Ayat ini juga menunjukkan makna tumbuhan yang diridhai manfaatnya oleh Allah SWT. Allah SWT menumbuhkan bermacam-macam tumbuhan yang baik dimana didalamnya terkandung manfaat yang baik juga. Salah satunya adalah tanaman telang, dimana berbagai penelitian telah menguji kandungan metabolit sekunder dari tanaman ini dan menghasilkan temuan berbagai kebermanfaatannya terutama bagi kesehatan, seperti kandungan antioksidan tinggi, antidiabetik, antibakteri, dan lain-lain. Adanya ayat ini menunjukkan bahwa setiap yang ada pada bumi ini diciptakan oleh Allah SWT sedemikian rupa dengan segala manfaatnya, sehingga mendorong untuk eksplorasi tanaman sebagai bahan antibakteri alternatif.

Penelitian Febrianti dkk (2022) menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) menggunakan pelarut etanol memiliki kemampuan menarik senyawa metabolit sekunder pada bunga telang yang berperan sebagai antibakteri salah satunya terhadap bakteri patogen seperti *E. coli*, senyawa tersebut meliputi tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, dan fenol. Pratap *et al* (2012) telah menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak bunga telang dalam gradien konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50% terhadap bakteri gram positif. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang pada konsentrasi 5% zona hambat yang terbentuk masuk ke dalam kategori lemah, konsentrasi 10% kategori penghambatan sedang, konsentrasi 25% kategori penghambatannya sedang namun lebih tinggi dibanding konsentrasi 10%, dan pada konsentrasi 50% menghasilkan kategori penghambatan sedang menuju kuat 7-10mm. Penelitian oleh Frisca dkk (2021) menunjukkan juga ekstrak etanol bunga telang pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% menghasilkan zona hambat sebesar 6,3mm, 6,9mm, 8,3mm, dan 8,8mm terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dengan kategori penghambatan sedang. Sehingga konsentrasi tersebut dijadikan referensi penentuan konsentrasi pada penelitian ini.

Mekanisme antibakteri dari ekstrak bunga telang dapat dipengaruhi oleh komponen metabolit sekunder dari ekstrak seperti flavonoid yang berperan dalam mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sehingga lapisan dinding sel bakteri rusak (Khumairoh dkk, 2020). Saponin dapat membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen yang mengakibatkan rusaknya struktur protein sehingga permeabilitas membran sel menjadi tidak seimbang dan menyebabkan lisis pada sel. Selain itu, keberadaan senyawa tannin

pada ekstrak bunga telang dapat merusak membran dan fungsi materi genetik sel bakteri (Riyanto dkk, 2019). Keberadaan senyawa-senyawa kimia tersebut terutama flavonoid yang tinggi memungkinkan pemanfaatan ekstrak bunga telang sebagai antibakteri alami.

*Clitoria ternatea* memiliki stabilitas antosianin (warna atau pigmen) yang lemah (tidak stabil) (Waisnawi dkk, 2022). Antosianin pada bunga telang tidak stabil karena memiliki sensitifitas terhadap perubahan suhu maupun pH (Yernisa & Syamsu, 2013). Stabilitas antosianin pada umumnya pada pH asam. Sehingga untuk menjaga kestabilan pigmen diperlukan zat pengikat pigmen dari bunga telang atau zat tambahan yang dapat menurunkan pH sampai sekitar pH 5 (Charurungsipong *et al*, 2020). Perubahan pigmen pada bunga telang dapat mempengaruhi efektivitas farmakologis dan struktur kimia dari senyawa antosianinnya. pH rendah atau asam menyebabkan antosianin berbentuk *flavilium* yang memiliki kemampuan kuat sebagai antibakteri dibandingkan antosianin dalam keadaan netral atau basa (bentuk *Chalcone*) (Lin *et al*, 2023). Kondisi asam dapat memudahkan senyawa ini dalam mendegradasi membran sel dari suatu bakteri. Pernyataan tersebut menunjukkan bahwa diperlukan zat tambahan seperti asam askorbat dan asam sitrat untuk menstabilkan pigmen sehingga aktivitas antibakteri dari kombinasi ini lebih optimal (Mauludufia *et al*, 2019). Penambahan asam dapat meningkatkan kestabilan antosianin sehingga diharapkan dengan beberapa referensi yang didapat dimana ekstrak bunga telang memiliki kemampuan antibakteri lemah-sedang dapat meningkat menjadi kuat.

Waisnawi dkk (2022) menunjukkan bahwa penambahan jeruk nipis dapat membantu meningkatkan kestabilan antosianin terutama pada bunga telang, karena

jeruk nipis memiliki kandungan asam sitrat dan asam askorbat sehingga dapat menurunkan pH produk dan antosianin stabil pada pH asam (Le *et al*, 2019). Hal ini didukung oleh pernyataan Lazuardi (2010) bahwa kandungan asam sitrat yang terdapat pada jeruk nipis dapat menurunkan pH dan membuat kondisi lebih asam, kondisi yang semakin asam akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oxonium berwarna yang menyebabkan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah antosianin yang semakin besar sehingga nilai total antosianin akan semakin tinggi dan stabil (Charurungsipong *et al*, 2020).

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu tanaman yang umum dimanfaatkan sebagai antibakteri dan telah banyak dilakukan penelitian salah satunya oleh Sari dkk (2021) yang menunjukkan bahwa perasan kulit jeruk nipis memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *E. coli* yang mulai menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi 20%. Ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan meningkatkan kandungan vitamin C. Didukung juga oleh penelitian Waisnawi dkk (2022) sebelumnya bahwa penambahan jeruk nipis dapat mempengaruhi pH, total antosianin, dan aktivitas antioksidan pada minuman telang. Pernyataan tersebut menguatkan peneliti untuk mengkombinasikan ekstrak bunga telang dan jeruk nipis karena dinilai terdapat potensi sinergisitas sebagai antibakteri alternatif.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Berapa kombinasi konsentrasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terbaik yang berpotensi sebagai antibakteri pada *Escherichia coli*?
2. Berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan pada *Escherichia coli* berdasarkan konsentrasi kombinasi ekstrak terbaik?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Menentukan kombinasi konsentrasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terbaik yang berpotensi sebagai antibakteri pada *Escherichia coli*.
2. Menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan pada *Escherichia coli* berdasarkan konsentrasi kombinasi ekstrak terbaik.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Secara teoritis: penelitian ini dapat dijadikan sebagai informasi penelitian selanjutnya untuk menguji potensi antibakteri berbahan dasar kombinasi

ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *E. coli*.

2. Secara praktis: penelitian ini dapat menghasilkan pengetahuan yang dapat disampaikan kepada masyarakat tentang pentingnya pemanfaatan tanaman herbal seperti bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai antibakteri alami.

### 1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Penelitian ini menggunakan eksplorasi perbandingan kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis berturut-turut yaitu 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, 100% ekstrak bunga telang, dan 100% ekstrak jeruk nipis, perbandingan ini bukan berdasarkan konsentrasi tetapi perbandingan volume dalam total volume yang ditentukan.
2. Konsentrasi ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* disamakan yaitu pada konsentrasi 25% untuk menunjukkan adanya efek sinergisitas kombinasi.
3. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu antibiotik jenis ciprofloxacin, sedangkan kontrol negatif menggunakan larutan DMSO 1%.
4. Parameter yang diuji yaitu berupa terbentuknya zona hambat dan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*).
5. Bakteri uji menggunakan *Escherichia coli* ATCC 25922 termasuk ke dalam bakteri patogen golongan ETEC (*Enterotoxigenic Escherichia coli*) penyebab diare.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik (bersel satu) yang tidak memiliki membran inti sel, namun memiliki informasi genetik berupa DNA yang berbentuk sirkuler (nucleoid), dan tidak memiliki klorofil (heterotrof) (Holderman *et al*, 2017). Bentuk tubuh bakteri secara umum yaitu berbentuk bulat (*coccus*), batang (*basil*), dan lengkung (*spiral*) (Van Teeseling *et al*, 2017). Sedangkan struktur tubuh bakteri umumnya terdiri dari dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, DNA, dan granula, namun ada juga bakteri yang memiliki struktur tubuh tambahan seperti kapsul, flagella, pilli, endospora, vakuola gas, dan fimbria (Putri dkk, 2017). Sebagian besar bakteri berkembang biak secara asexual dengan cara membelah diri atau biasa disebut pembelahan biner. Namun, bakteri juga dapat berkembang biak melalui rekombinasi materi genetik seperti konjugasi, transduksi, dan transformasi.

Keberadaan mikroorganisme seperti bakteri ini, diisyaratkan oleh Allah SWT dalam Al Quran surah Al Baqarah ayat 26 tentang adanya makhluk yang lebih kecil dari nyamuk yang berbunyi:

﴿إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?". Dengan perumpamaan itu banyak

*orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.” (Q.S. Al Baqarah [2]: 26)*

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT memberikan sebuah perumpamaan dengan seekor “nyamuk” atau *makhluk yang lebih kecil* dari itu untuk memberi petunjuk. Secara implisit Allah SWT mengisyaratkan adanya makhluk-makhluk yang lebih kecil dari seekor nyamuk yangmana jika dikaitkan dengan penelitian ini Allah SWT menyampaikan bahwa terdapat makhluk lebih sederhana seperti bakteri. Adanya bakteri menunjukkan bahwa terdapat makhluk sederhana yang diisyaratkan oleh Allah SWT dan dapat memberikan petunjuk baik kebermanfaatannya dalam kehidupan yang dapat diketahui melalui sebuah penelitian. Makhluk kecil atau mikroskopis yang memiliki berbagai karakteristik menarik jika diteliti.

Bakteri dapat berkembang biak dengan cepat, terutama pada lingkungan yang optimal. Habitat bakteri sendiri tersebar sangat luas di alam, sehingga dapat ditemukan di seluruh media atau tempat, bahkan di makhluk hidup yang lain seperti hewan, tumbuhan, bahkan pada tubuh manusia. Mikroorganisme ini memiliki bersifat parasitik, saprofitik, bahkan ada yang bersifat patogen. Bakteri yang hidup pada tubuh manusia juga tersebar di beberapa bagian organ misalnya bakteri di saluran pernafasan, bakteri di saluran ekskresi, sampai bakteri di saluran pencernaan. Menurut Dietert & Dietert (2015) bahwa jumlah mikrobioma (kumpulan bakteri) pada manusia paling banyak terdapat di usus, dimana usus merupakan bagian dari sistem pencernaan. Lingkungan usus yang kaya nutrisi, lembap, dan memiliki kondisi anaerob mendukung pertumbuhan serta keragaman mikroba yang tinggi (Gill *et al*, 2006; Sender *et al*, 2016). Peran mikrobioma

tersebut adalah membantu mencerna makanan dan sebagai perlindungan terhadap bakteri patogen. *Escherichia coli* merupakan contoh bagian dari mikroflora yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan manusia dan hewan (Trisno dkk, 2019).

Bakteri sebagai mikroflora atau mikrobioma pada saluran pencernaan, dimana apabila jumlahnya dalam keadaan seimbang dalam saluran pencernaan memiliki kemampuan untuk menjalankan berbagai fungsi penting yang dapat menjaga kesehatan tubuh secara keseluruhan. Sebaliknya, apabila keberadaan mikroflora mengalami ketidakseimbangan atau dysbiosis, keberadaannya justru dapat menyebabkan munculnya berbagai gangguan kesehatan (Hasibuan & Kolondam, 2017). Tanpa mikrobiota usus, tubuh manusia tidak akan mampu memanfaatkan beberapa karbohidrat yang belum tercerna untuk mengkonsumsi, karena beberapa jenis mikrobiota usus memiliki enzim dimana sel manusia tidak mampu untuk memecahkannya khususnya polisakarida (Clarke *et al.*, 2014).

Bakteri mampu mengubah karbohidrat dengan cara berfermentasi menjadi asam lemak rantai pendek (SCFAs) disebut fermentasi sakarolitik. Produknya meliputi asam asetat, asam propionat, dan asam butirat. Produk ini dapat digunakan oleh sel inang, menyediakan sumber utama energi dan nutrisi bagi manusia, serta membantu tubuh menyerap mineral penting seperti kalsium, magnesium, dan zat besi (Gibson dan Glenn, 2004). Gas dan asam organik (seperti asam laktat) juga diproduksi oleh fermentasi sakarolitik (Guarner dan Malagelada, 2003). Asam asetat digunakan oleh otot, asam propionat membantu hati menghasilkan ATP, dan asam butirat memberikan energi untuk sel usus dan dapat mencegah kanker (Beaugerie *et al.*, 2004). Bukti lain yang menunjukkan bahwa bakteri meningkatkan

penyerapan dan penyimpanan lipid kemudian memfasilitasi tubuh untuk menyerap vitamin yang diperlukan seperti vitamin K. Sehingga dapat diketahui bahwa keberadaan bakteri yang terjaga memiliki peranan penting dalam sistem pencernaan.

## **2.2 *Escherichia coli***

### **2.2.1 Klasifikasi**

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut ITIS (2012); Wahyuningsih dkk (2023) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria

Divisi : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

### **2.2.2 Definisi**

*Escherichia coli* merupakan spesies bakteri anaerobik fakultatif yang memiliki bentuk batang pendek (*cocobasil*). Bakteri ini memiliki ukuran  $0,4\ \mu\text{m} - 0,7\ \mu\text{m} \times 1,4\ \mu\text{m}$ . Gambaran morfologi dari *E. coli* dapat menyesuaikan dengan media tumbuh dari bakteri ini misalnya pada media EMB agar menunjukkan karakteristik koloni berwarna hijau metalic (pada gambar 1), pada media MacConkey dan *Chromogenic agar* bakteri ini menunjukkan karakteristik koloni berwarna pink (pada gambar 2 dan 3). Beberapa strain dari bakteri ini memiliki tambahan organ berupa kapsul.

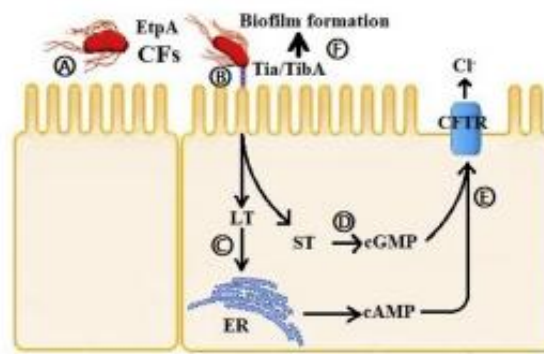
*Escherichia coli* termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif yang secara alami berada pada saluran pencernaan manusia, feses hewan, dan manusia. *Escherichia coli* terdiri dari bakteri yang bersifat patogen dan tidak patogen (Wahyuningsih dkk, 2023). Hal ini didukung dengan pernyataan Kaur & Dudeja (2023) bahwa sebagian besar strain bersifat non-patogen dan berperan penting dalam menjaga fisiologi usus. Keberadaan bakteri ini pada saluran pencernaan berperan sebagai flora usus dimana dapat membantu proses pembusukan bahan sisa cerna. Namun, sebaliknya jika keberadaannya tidak seimbang atau terlalu banyak yang biasanya disebabkan karena adanya kontaminasi makanan atau minuman yang dikonsumsi, maka dapat menimbulkan permasalahan pada pencernaan seperti diare dan lain-lain. *E. coli* dapat ditemukan di tanah, sayuran, di air, serta daging mentah. Berdasarkan serotipenya bakteri *E. coli* dibagi menjadi 5 diantaranya; enterotoksigenik *E. coli* (ETEC), enteroinvasif *E. coli* (EIEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enterohemoragik *E. coli* (EHEC), dan enteroagregatif *E. coli* (EAEC) (Trisno dkk, 2019).

### **2.2.3 Mekanisme Patogenesis *E. coli* pada Usus Manusia**

Salah satu serotipe *E. coli* yakni Enterotoksigenik *E. coli* (ETEC) merupakan salah satu penyebab diare paling umum, terutama pada anak-anak, biasanya ditularkan melalui makanan atau air yang terkontaminasi dengan kotoran hewan atau manusia. Mekanisme patogenesis *E. coli* dalam usus manusia berbeda-beda sesuai dengan jenis strain patogeniknya, misalnya pada ETEC yang awalnya masuk ke usus karena ada kontaminasi dengan makanan atau minuman (Govindarajan *et al*, 2020). Strain ETEC dapat menempel pada mukosa usus halus kemudian

membentuk koloni. Setelah melekat pada usus, ETEC memulai patogenesisnya dengan menghasilkan racun yang bekerja pada sel-sel mukosa untuk menghilangkan air dan menyebabkan diare. Namun, bakteri tidak menyerang mukosa usus (Fleckenstein *et al*, 2010). Selain menempel pada sel inangnya, strain ini juga memiliki motilitas berkedut oleh pili dan membentuk agregat diri sebagai pertahanan dari adanya antibakteri.

Pada ETEC, protein EtpA pada flagela melakukan kontak dengan sel epitel inang untuk perlekatan. ETEC yang melekat mengeluarkan toksin seperti LT (*Labile Toxin*/ Toxin Labil Panas), ST (*Stabile Toxin*/ Toxin Stabil Panas), dan LT + ST, LT ini membalikkan retikulum endoplasma dan menyalurkan toksin ke sitoplasma tempat kadar AMP siklik meningkat dengan menghambat GTPase. Peningkatan AMP siklik membuka reseptor transmembran fibrosis kistik (CFTR) yang mengakibatkan hilangnya elektrolit dan cairan dalam lumen usus. Kehilangan cairan ini juga mengganggu barier usus, yang menyebabkan diare (Kreisberg *et al*, 2011). Toksin ST menyebabkan peningkatan cGMP, yang merangsang CFTR untuk mengeluarkan klorida (Cl) dan mencegah penyerapan cairan, hal ini menyebabkan diare berair (Govindarajan *et al*, 2020). Adanya infeksi *E. coli* dapat ditularkan melalui kontak langsung dengan seseorang yang sakit atau dengan hewan yang membawa bakteri, serta penyebaran dari bakteri ini sangat mudah menyebar dari manusia ke manusia. Upaya penanganan kasus infeksi bakteri saat ini masih menggunakan antibakteri atau antibiotik. Diketahui pada Nurjannah dkk (2020) dikatakan bahwa pemakaian antibakteri selama lima dekade terakhir mengalami peningkatan yang luar biasa.



Gambar 2.1 Mekanisme patogenesis ETEC di Usus

## 2.3. Antibakteri

### 2.3.1. Definisi

Antibakteri merupakan salah satu komponen antimikroba yang memiliki kemampuan dalam menekan pertumbuhan bakteri sekaligus membunuh bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi (Ming *et al*, 2021). Antibiotik atau antibakteri adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang bersifat toksik terhadap mikroorganisme yang lain, sehingga penggunaan antibiotik untuk mencegah adanya infeksi bakteri (Habibi & Johannes, 2022). Adanya potensi suatu antibakteri dalam menghambat atau menjadi antibakteri pada bakteri lain dapat terlihat dari terbentuknya zona hambat pada media atau di antara kedua bakteri tersebut. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak bijak dapat menimbulkan permasalahan terutama resistensi terhadap antibiotik yang mana dapat menyebabkan pengobatan infeksi dengan adanya antibiotik tidak lagi efisien bahkan permasalahan terbesar yaitu ketika antibiotik tidak lagi dapat digunakan dan tidak mampu membantu mendegradasi bakteri penyebab infeksi sehingga dapat menimbulkan kemungkinan terburuk pada pasien yakni mengancam jiwa. Menurut WHO, resistensi antibiotik merupakan suatu proses mutasi organisme baik bakteri,

jamur, virus, atau parasit yang terpapar oleh antibiotik, sehingga menyebabkan infeksi terus berlanjut (Nurjannah dkk, 2020).

Banyak sekali kasus resistensi antibakteri yang telah terjadi di Indonesia terutama resistensi *E. coli* terhadap antibakteri. Beberapa kasus resistensi antibiotik terbanyak diungkapkan, seperti resistensi pada antibakteri jenis tetrasiklin dimana diketahui bahwa antibiotik jenis ini banyak tersedia unit-unit pelayanan kesehatan (Puskesmas) (Jurnal dkk, 2015). Selain itu, Firizki (2013) juga menyatakan bahwa pengobatan ISK (Infeksi Saluran Kemih) juga sering menggunakan antibiotik jenis *Cotrimoxazole*, *Fluoroquinolone*, golongan  $\beta$ -Lactam seperti *Penicillin* dan *Cephalosporin*, sehingga memungkinkan adanya resistensi antibiotik ini. Penelitian yang lain juga mengungkapkan bahwa antibiotik ciprofloxacin resisten terhadap isolat *E. coli*, dimana diketahui bahwa antibiotik ini termasuk antibakteri yang paling baik untuk digunakan pada kasus *E. coli*.

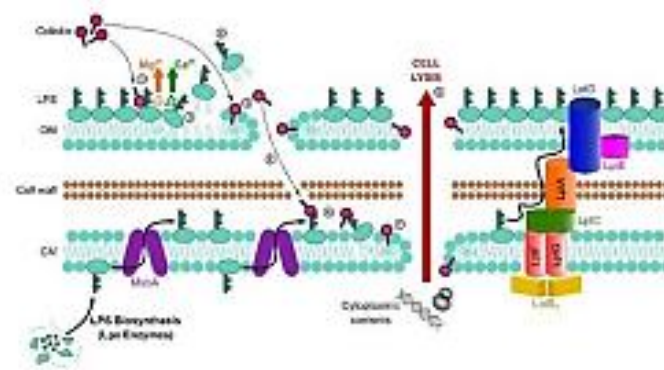
Hilda (2015) dalam penelitiannya juga mendapatkan hasil bahwa antibiotik yang masih sensitif di antaranya adalah ciprofloksasin dari golongan fluoroquinolon, dan kloramfenikol dari golongan fenikol, sedangkan antibiotik yang telah resisten pada isolat *E. coli* antibiotik golongan beta laktam seperti ampicilin dan penisilin, dan golongan lainnya seperti eritromisin, tetrasiklin, dan nitrofurantion. Efek negatif adanya resistensi terhadap antibakteri ini diharapkan dapat dikurangi dengan pemanfaatan ekstrak tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri, seperti bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

### 2.3.2. Mekanisme Kerja Antibiotik

Terdapat beberapa upaya pengembangan antimikroba yang ditargetkan ke beberapa titik kerentanan pada bakteri seperti dinding sel bakteri, penghalang produksi protein baru, dan menarget DNA atau replikasi DNA. Antibiotik yang mampu menarget pada dinding sel yaitu  $\beta$ -laktam, glikopeptida, daptomisin, dan colistin.  $\beta$ -laktam berperan sebagai inhibitor PBP yang biasanya merakit lapisan peptidoglikan yang mengelilingi sebagian besar bakteri. Adanya interaksi tersebut membuat tidak terjadinya sintesis peptidoglikan baru sehingga menyebabkan lisis bakteri (terlihat pada gambar 2) (Aghapour *et al*, 2019). Seperti  $\beta$ -laktam, glikopeptida yang dikenal dengan vancomisin dan telavancin mampu membunuh bakteri dengan mencegah sintesis dinding sel. Mereka mengikat bagian *D-alanyl-D-alanine* dari rantai samping peptida dari subunit peptidoglikan prekursor. Karena sebagian besar molekul glikopeptida besar, pengikatan ini mencegah subunit diakses oleh PBP yang biasanya akan memasukkan mereka ke dalam polimer peptidoglikan yang tumbuh (terlihat pada gambar 3) (McGuinness *et al*, 2017).

Daptomisin termasuk antibiotik lipopeptida siklik, mekanismenya terdiri dari tiga tahap yaitu mengikat membran sitoplasma dengan bergantung pada kalsium, mengganggu membran sehingga terbentuk saluran, dan melalui saluran tersebut memungkinkan ion keluar. Pelepasan ion intraseluler ini dapat menyebabkan kematian sel yang cepat (terlihat pada gambar 4) (Zhivich, 2020). Sedangkan Colistin termasuk dekaeptida siklik (bermuatan positif) yang memungkinkan untuk mengikat molekul lipopolisakarida yang bermuatan negatif di membran luar bakteri, menggantikan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$  yang biasanya menstabilkan lipid. Adanya antibiotik ini mampu mengganggu molekul





Gambar 2.5 Mekanisme kerja colistin

Mekanisme antibiotik dalam menghambat sintesis protein dimana merupakan proses penting yang dapat mempengaruhi keberlangsungan bakteri. Beberapa antibiotik memiliki spesifikasi dalam menghambat sintesis protein seperti aminoglikosida dapat mengikat membran luar yang bermuatan negatif sehingga membentuk lubang dan melakukan penetrasi membran sitoplasma bakteri ribosom. Setiap aminoglikosida mengikat subunit 30S dari ribosom bakteri sehingga menyebabkan ketidakcocokan antara kodon mRNA dengan *aminoacyl*-tRNA dan pada akhirnya terjadi kesalahan translasi protein (Gallagher & MacCougall, 2018). Ada juga Makrolide yang mampu mengikat erat ke subunit 50S dari ribosom bakteri di lokasi yang menghalangi keluarnya peptida yang baru untuk disintesis. Oleh karenanya, protein dapat dicegah produksinya (Vazquez-Laslop & Mankin, 2018).

Terdapat antibiotik tetrasiklin dan glisilsiklin yang mampu menghambat sintesis protein dengan berinteraksi dengan subunit 30S dari ribosom sehingga mencegah pengikatan oleh molekul tRNA yang dimuat oleh asam amino (Markley & Wencewicz, 2018). Selain menargetkan dinding sel dan sintesis protein pada bakteri, antibiotik juga dapat menargetkan enzim topoisomerase yang berperan dalam replikasi DNA pada bakteri, sehingga proses pembelahan dan perbanyakan

diri dari bakteri dapat terhambat. Beberapa antibiotik yang menargetkan DNA yaitu rifamisin, sulfa, kuinolon, metronidazol, dan lain-lain (Anggita dkk, 2022).

#### 2.4. Bunga Telang (*Clitoria ternatea*)

Klasifikasi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) Biru menurut Linnaeus (1753) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Fabales

Famili : Fabaceae

Genus : *Clitoria*

Spesies : *Clitoria ternatea* L. (Linnaeus, 1753)



Gambar 2.6 Morfologi bunga telang (*Clitoria ternatea*) (Zahara, 2022)

Bunga telang (*Clitoria ternatea*) merupakan salah satu tanaman yang kaya akan komponen-komponen kimia seperti antoninian yang memiliki aktivitas antioksidan. Selain antosianin yang dapat menghasilkan antioksidan, tanaman ini juga mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan diantaranya flavonoid, asam fenolik, *procyanidin*, dan *flavonol glycoside* (Jamil *et al*, 2018). Tanaman ini mengandung banyak senyawa bioaktif meliputi tanin, resin, steroid,

saponin, triterpenoid, dan *xanthene* (Manjula *et al*, 2013). Menurut Jamil & Pa'ee (2018) bahwa senyawa bioaktif telang tersebar ke seluruh bagian organ tanaman dan terdapat potensi tanaman ini sebagai agen antibakteri.

Telang memiliki potensi sebagai prebiotik karena mampu mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilis*. Hal ini dibuktikan pada penelitian Nadia *et al* (2020) yang menunjukkan bahwa penambahan ekstrak bunga telang sebanyak 5% (b/v) dalam pembuatan yogurt meningkatkan populasi bakteri asam laktat dan total asam laktat. Dimana kita ketahui bahwa bakteri ini memiliki manfaat baik bagi kesehatan pencernaan. Namun di sisi lain terdapat kelemahan dari bunga telang sebagai bahan pewarna alami. Bunga telang memiliki zat warna yang cenderung tidak stabil karena memiliki sensitifitas terhadap perubahan suhu maupun pH (Yernisa & Syamsu, 2013). Maka dari itu, diperlukan zat tambahan untuk menstabilkan zat warna dari bunga telang seperti asam askorbat dan kopigmen lainnya (Sari dkk, 2024). Diketahui bahwa adanya kopigmen dapat menguatkan dan menstabilkan kandungan senyawa antosianin pada bunga telang, sehingga kandungan senyawa aktif didalamnya juga dapat stabil.

## 2.5. Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Klasifikasi jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam jurnal Al Namani *et al* (2018) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae

Genus : Citrus

Spesies : *Citrus aurantifolia*

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu kelompok famili Rutaceae yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai penyedap masakan, pengawet, dan tanaman obat. Tanaman ini memiliki potensi dikembangkan sebagai tanaman obat karena memiliki manfaat sebagai diuretik, antiinflamasi, perangsang nafsu makan, antibakteri, dan obat diare. Tanaman ini mengandung komponen senyawa seperti asam sitrat, asam askorbat, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, yang tersebar di bagian organ tanaman ini. Kandungan senyawa tersebut memungkinkan jeruk nipis berpotensi sebagai antibakteri.

Telah banyak penelitian yang menunjukkan aktivitas senyawa dari jeruk nipis sebagai antibakteri, baik yang dibuktikan dengan minyak atsiri, air perasan, atau ekstrak dari tanaman ini. Penelitian yang dilakukan oleh Sari dkk (2021) menunjukkan bahwa perasan kulit jeruk nipis yang digramasi perlakuannya menjadi 4 konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100% menunjukkan adanya potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *E. coli* yang dilakukan , yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25% sudah menunjukkan adanya zona hambat pada media dengan rata-rata diameternya 19,43 mm yang menunjukkan kemampuan hambat pertumbuhan yang kuat yaitu lebih dari 10 mm. Selain perasan kulit jeruk nipis, pada penelitian Razak dkk (2013) ditunjukkan juga adanya aktivitas penghambatan oleh air perasan buah jeruk nipis terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dilakukan dengan berbagai konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%. Penelitian yang lain oleh Parama dkk (2019) menunjukkan

adanya potensi antibakteri dari ekstrak buah jeruk nipis terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*, dengan perlakuan konsentrasi 40%; 60%; 80% dan menunjukkan rata-rata zona hambat 14,7 mm; 19,6 mm; dan 22,6 mm. Kemampuan antibakteri dari tanaman ini menunjukkan adanya potensi baik dari tanaman ini untuk dikembangkan sebagai bahan antibakteri alami.

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) juga dikenal dengan kandungan asam sitrat atau asam askorbatnya. Kandungan asam dalam jeruk nipis dapat mempengaruhi menurunkan pH jika dikombinasikan dengan bahan lain. Jika jeruk nipis dikombinasikan dengan bunga telang, maka dapat menghasilkan kombinasi senyawa yang lebih stabil seperti antosianin. Antosianin sendiri merupakan salah satu komponen bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan penting dalam menangkal radikan bebas yang dihasilkan oleh proses oksidasi. Antioksidan sendiri sangat berkaitan dengan adanya aktivitas antibakteri, karena adanya kandungan flavonoid. Kadar antioksidan yang tinggi memungkinkan adanya kandungan flavonoid juga tinggi. Flavonoid sendiri memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

Antosianin umumnya stabil pada pH asam. Kandungan asam sitrat dan asam askorbat pada jeruk dapat menurunkan pH dari suatu produk sehingga antosianin akan lebih stabil karena berada pada pH asam. Menurut Lazuardi (2010) bahwa kondisi asam yang ditimbulkan dari tambahan asam sitrat dapat menyebabkan pigmen antosianin terutama pada bunga telang berada pada bentuk kation flavilium atau oxonium yang berwarna, sehingga didapatkan absorbansi jumlah antosianin semakin besar begitu juga dengan nilai total antosianinnya akan semakin tinggi dan stabil (Charurungsipong *et al*, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Waisnawi dkk

(2022) menunjukkan bahwa penambahan jeruk nipis dapat mempengaruhi pH, kadar vitamin C, total antosianin, dan aktivitas antioksidannya. Penelitian ini menghasilkan konsentrasi terbaik jeruk nipis yaitu 5% yang menghasilkan karakteristik pH 4,81, kadar vitamin C 5,47, total antosianin 2,19 mg/g, dan aktivitas antioksidan 45,60%. Dibuktikan bahwa penambahan jeruk nipis yang mengandung asam sitrat pada minuman bunga telang dapat mempengaruhi kestabilan antosianin sehingga lebih stabil dan tinggi, meningkatkan vitamin C, dan aktivitas antioksidannya juga meningkat. Menurut Pedro *et al* (2016) bahwa terdapat perubahan warna dari penambahan asam yang mempengaruhi pH yaitu pada pH 3 warna antosianin berubah menjadi merah, pada pH 4 berwarna merah keunguan, pada pH 5-6 menjadi warna ungu, dan pada pH 7 berwarna ungu biru.

## **2.6. Metode Uji**

### **2.6.1. Uji Daya Hambat (Metode Difusi)**

Uji aktivitas antibakteri umumnya melibatkan metode difusi agar yang meliputi metode cakram atau sumuran. Metode ini dilakukan dengan mengamati zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar sampel yang diuji. Adanya zona hambat tersebut menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap senyawa antibakteri. Metode difusi cakram (*Disc Diffusion*) dapat dilakukan dengan menempatkan sampel uji pada kertas cakram yang ditempatkan pada media agar yang telah diinokulasi bakteri uji. Setelah itu dilakukan inkubasi untuk mengamati zona hambat (area transparan di sekitar cakram). Metode kertas cakram memiliki kelebihan yaitu cepat, mudah, dan murah karena tidak membutuhkan alat khusus (Katrin dkk, 2015).

Metode difusi sumuran (*Well Diffusion*) dapat dilakukan dengan pembuatan lubang sumuran pada media agar yang telah diinokulasi bakteri uji. Kemudian, sampel dilakukan uji dengan dimasukkan ke dalam sumuran. Setelah itu dilakukan inkubasi selama kurang lebih 24 jam kemudian dilakukan pengukuran zona hambatnya. Kelebihan dari metode sumuran yaitu dapat menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar karena pada metode ini terjadi proses osmolaritas konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan metode cakram disk. Osmolaritas terjadi secara menyeluruh dan homogen sehingga konsentrasi penghambatannya lebih kuat terhadap pertumbuhan bakteri (Nurhayati *et al*, 2020 dalam Pisacha dkk, 2023).

Tujuan dilakukannya uji daya hambat suatu antibakteri adalah untuk mengetahui seberapa besar kemampuan dari beberapa konsentrasi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Zona hambat yang terbentuk dari perlakuan dapat diukur menggunakan jangka sorong (Katrin dkk, 2015). Menurut Safitri & Fatmawati (2021), respon hambatan pertumbuhan bakteri dapat dikategorikan ke dalam beberapa tipe mulai dari lemah sampai sangat kuat yang ditunjukkan pada tabel 2.1 di bawah ini:

Tabel 2.1 Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri

| <b>Diameter Zona hambat</b> | <b>Kategori Hambatan</b> |
|-----------------------------|--------------------------|
| <5 mm                       | Lemah                    |
| 5-10 mm                     | Sedang                   |
| 10-20 mm                    | Kuat                     |
| >20 mm                      | Sangat kuat              |

### 2.6.2. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (MIC atau *Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan suatu metode yang digunakan dalam pengujian antibakteri dengan menentukan konsentrasi terkecil dari sampel yang mampu menghambat bakteri yang telah diinokulasikan dan terbentuknya zona hambat. Metode ini dapat menjadi metode lanjutan (indikator kuantitatif) setelah mengetahui daya hambat terhadap bakteri. Hasil uji konsentrasi hambat minimum akan menunjukkan efektivitas ekstrak atau senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba yang diuji, sehingga dapat ditentukan untuk perlakuan uji lanjut yaitu kemampuan bunuh bakteri (bakterisidal) atau uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Metode ini terdiri dari dua macam pendekatan yaitu dilusi cair (*Broth Dilution*) dan dilusi padat (*Agar Dilution*). Perbedaan antara kedua pendekatan ini yaitu pada media yang digunakan. Dilusi cair dilakukan dengan melarutkan beberapa konsentrasi ekstrak ke dalam media cair yang telah diinokulasi suspensi bakteri uji, kemudian diinkubasi pada suhu optimum (35-37°C) selama  $\pm 24$  jam. Penentuan KHM didasarkan pada konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan kekeruhan pada media (Chung *et al*, 2019). Sedangkan, pada metode dilusi padat senyawa antibakteri (ekstrak tanaman) dicampurkan dengan media agar kemudian dituang ke media, lalu bakteri uji diinokulasikan ke media. Jika didapatkan konsentrasi terendah tanpa pertumbuhan koloni bakteri, maka dianggap sebagai nilai KHM. Penentuan hasil KHM dapat dilakukan secara visual ataupun menggunakan bantuan spektrofotometer. Visual berarti cara pengamatan atau pembacaan hasil dengan mengamati kekeruhan dari media, sedangkan penentuan

hasil menggunakan spektrofotometer dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan dan dibandingkan dengan kontrol negatif (campuran media dengan ekstrak).

Penelitian yang dilakukan oleh Banerjee *et al* (2022) menunjukkan bahwa adanya potensi antibakteri dari fraksi kaya antosianin bunga telang (*Clitoria ternatea*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan nilai KHM sebesar 10 mg/mL yang dilakukan menggunakan metode dilusi agar. Potensi tersebut didukung dengan adanya kandungan senyawa fenolik dan antosianin yang mampu merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri. Penelitian lainnya pada jeruk nipis oleh Najiya (2022) menunjukkan bahwa ekstrak akar jeruk nipis mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan nilai KHM yaitu konsentrasi 50% (50 mg/mL). Hal tersebut didukung dengan adanya kandungan senyawa-senyawa seperti flavonoid, saponin, dan minyak atsiri dari jeruk meskipun kemampuan antibakterinya pada konsentrasi tinggi.

### **2.6.3. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (MBC atau *Minimum Bactericidal Concentration*)**

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) merupakan konsentrasi terendah dari suatu antibakteri yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan (kematian) bakteri uji pada media setelah dilakukan inkubasi (Munira & Nasir, 2023). Uji KBM adalah uji lanjutan setelah diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari suatu antibakteri. Jika KHM dilakukan untuk menentukan konsentrasi terendah suatu ekstrak yang sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, maka KBM dilakukan untuk menentukan konsentrasi terendah yang mampu membunuh atau mematikan bakteri uji secara nyata. Perbedaan antara nilai KHM dan KBM dapat dijadikan sebagai indikator kekuatan antibakteri suatu ekstrak. Jika nilai KBM

sedikit lebih tinggi daripada KHM, maka ekstrak tersebut dikategorikan bakterisidal (mematikan mikroba), namun jika nilai KBM memiliki nilai yang jauh lebih tinggi dari pada KHM maka dapat dikategorikan sebagai bakteriostatik artinya hanya mampu menghambat pertumbuhan mikroba (Chung *et al*, 2019). Bahan yang digunakan dalam uji KBM yaitu suspensi pada hasil uji KBM yang menunjukkan larutan berwarna jernih dimana menandakan tidak ada bakteri yang tumbuh.

## 2.7 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diduga mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* minimal pada konsentrasi ekstrak bunga telang 25%, dan ekstrak jeruk nipis 15%.
2. Perbedaan perbandingan kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis diduga menghasilkan aktivitas antibakteri yang berbeda, sehingga terdapat kombinasi ekstrak terbaik dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat.
3. Kombinasi ekstrak terbaik diduga memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

### **BAB III METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini meliputi variabel bebas yaitu kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), variabel terikat yaitu pertumbuhan *Escherichia coli*, dan variabel kontrol yaitu antibiotik ciprofloxacin 1mg/mL (1mg ciprofloxacin tablet dalam 1mL aquades), DMSO 1% (1ml DMSO pekat dalam 99ml aquades), dan asam askorbat (kontrol pH = 4). Jumlah ulangan yang digunakan pada penelitian ini yaitu 3 ulangan dalam setiap perlakuan. Perlakuan dilakukan dengan mengkombinasikan ekstrak bunga telang dengan jeruk nipis dalam beberapa perbandingan persentase konsentrasi dalam DMSO 1%. 5 perlakuan diberi kode perlakuan P1-P5 dengan keterangan sebagai berikut:

K(+) = antibiotik ciprofloxacin

K(-) = larutan DMSO 1%

Kontrol pH = Asam askorbat

P1 = Ekstrak bunga telang 25% : ekstrak jeruk nipis 75%

P2 = Ekstrak bunga telang 50% : ekstrak jeruk nipis 50%

P3 = Ekstrak bunga telang 75% : ekstrak jeruk nipis 25%

P4 = Ekstrak bunga telang 100%

P5 = Ekstrak jeruk nipis 100%

Kombinasi perlakuan dibuat dengan menentukan konsentrasi berdasarkan penelitian atau jurnal yang menunjukkan konsentrasi minimal setiap ekstrak baik ekstrak bunga telang atau jeruk nipis yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri

*Escherichia coli*. Kemudian dicari referensi potensi sinergis kombinasi konsentrasi tunggal setiap ekstrak. Penelitian Febrianti dkk (2022) menunjukkan potensi ekstrak bunga telang dengan konsentrasi 25% (persentase volume “ml” dalam DMSO 1%) dapat menunjukkan penghambatan  $\pm 7$ mm dengan kategori penghambatan “sedang” terhadap pertumbuhan *E. coli*. Konsentrasi tersebut dijadikan dasar untuk membuat perlakuan kombinasinya dengan jeruk nipis.

Perlakuan dalam penelitian ini terbatas hanya untuk menunjukkan bagaimana potensi penambahan perlakuan ekstrak jeruk nipis jika konsentrasinya lebih sedikit, sama dengan, atau lebih dari konsentrasi ekstrak bunga telang terhadap kekuatan aktivitas antibakterinya. Sehingga didapatkan minimal konsentrasi jeruk nipisnya 25% (persentase volume “ml” dalam DMSO 1%) untuk mendapatkan kombinasi yang seimbang. Penelitian ini juga mengontrol pH dari ekstrak jeruk nipis menggunakan asam askorbat untuk melihat apakah pH juga dapat mempengaruhi perlakuan.

### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Mei 2026. Kegiatan ini bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Islam Malang.

### **3.3 Alat dan Bahan**

#### **3.3.1. Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven, *blender*, *rotary evaporator*, vacuum, kertas saring, cawan petri, kertas cakram diameter 6mm, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), neraca analitik, *hot plate*, lampu bunsen, korek

api, plastik wrap, erlenmeyer, beaker glass, magnetic stirrer, kertas label, tabung reaksi, aluminium foil, handscoon, spreader, autoclave sterilisasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vortex, autoclave destruk, mikropipet ukuran 100-1000, yellow tip, blue tip, tisu, batang pengaduk, plastik petromax, cotton swap, well plate 96, spektrofotometer, kertas pH, spuid 10ml, ELISA reader Diatek Dr-200BC, colony counter, ringlight, dan jarum ose.

### 2.3.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*), ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), kultur *Escherichia coli*, etanol analis 70%, antibiotik ciprofloxacin 1mg/mL, aquades, media NA (*Nutrient Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), asam askorbat, media MHB (*Mueller Histon Broth*), media MHA (*Muller Histon Agare*), NaCl 0,9% steril, McFarland 0,5 ( $\pm 1,5 \times 10^8$  CFU/mL), larutan DMSO 1%, dan alkohol 70%.

## 3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

### 3.4.1. Persiapan Bahan Uji

#### 3.4.1.1. Ekstraksi Metabolit Sekunder Bunga Telang

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel bunga telang yang didapatkan dari Benih Nusantara Farm, Blora (bukan hasil budidaya sendiri). Sampel dipilih dari tempat ini karena memiliki kualitas bahan yang baik dibandingkan dengan beberapa tempat budidaya yang lain seperti hasil pengeringan, dan kualitas bunga tidak coklat pada bagian kelopak. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 70%. Perbandingan sampel dengan pelarut

yang digunakan dalam ekstraksi kandungan metabolit sekunder bunga telang adalah 1 : 10.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi atau perendaman selama 1 x 24 jam dimana 6 jam awal dilakukan penggojokan menggunakan *shaker*, kemudian 18 jam selanjutnya didiamkan dalam suhu ruang. Setelah maserasi, dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan filtratnya. Setelah filtrat tersaring, kemudian dipindahkan dalam *rotary evaporator* untuk dipekatkan pada suhu 40°C sampai pelarut menguap dan ekstrak menjadi kental. Ekstrak kental akan digunakan sebagai bahan uji aktivitas antibakteri yang akan dilarutkan lagi menggunakan larutan kontrol (DMSO 1%) dengan perbandingan 1mL:99mL. Kemudian dibuat beberapa perbandingan konsentrasi perlakuan.

#### 3.4.1.2. Ekstraksi Metabolit Sekunder Jeruk Nipis

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel berupa simplisia/serbuk yang diperoleh dari Gubuk Herbal Solo (bukan hasil budidaya sampai penyerbukan pribadi). Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 70%. Perbandingan sampel dengan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi kandungan metabolit sekunder jeruk nipis adalah 1 : 10. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi atau perendaman dalam etanol 70% selama 1 x 24 jam dimana 6 jam awal dilakukan penggojokan menggunakan *shaker*, kemudian 18 jam selanjutnya dimaserasi pada suhu ruang. Setelah maserasi selesai dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan filtratnya. Setelah filtrat tersaring, kemudian dipindahkan dalam *rotary evaporator* untuk dipekatkan menggunakan suhu 40°C sampai pelarut menguap dan ekstrak menjadi kental. Ekstrak kental akan digunakan sebagai bahan uji aktivitas antibakteri yang akan

dilarutkan menggunakan larutan kontrol (DMSO 1%) dengan perbandingan 1mL:99mL dalam aquades. Kemudian dibuat beberapa perbandingan konsentrasi dari perlakuan.

#### 3.4.1.3. Kultur Bakteri

Bakteri *E. coli* didapatkan dari isolat murni yang didapat dari AgaviLab bukan hasil isolasi sampai dengan pembiakan pribadi. Bakteri diremajakan pada media NA (*Nutrient Agarose*). Media NA dibuat dengan rasio 28g : 1000mL aquades, sehingga untuk membuat 3 cawan petri dengan total media 60mL dibutuhkan media sebanyak 1,68g, lalu di sterilkan dalam *autoclave*. Bakteri diinokulasikan pada media NA secara aseptis di dalam LAF menggunakan api bunsen menyala. Inokulasi bakteri dilakukan menggunakan metode *streak plate* (goresan) kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

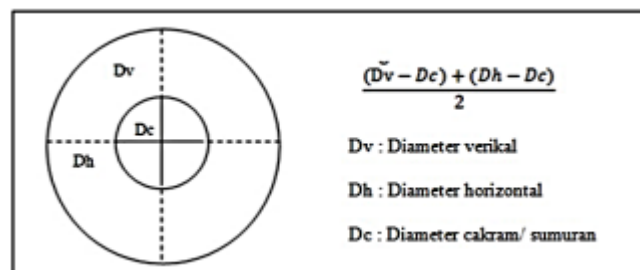
#### 3.4.1.4. Persiapan Media Uji

Media yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri dengan parameter zona hambat yaitu *Muller Histon Agar* (MHA). Media ini merupakan media umum yang digunakan untuk uji aktivitas sinergis antara senyawa antibakteri dengan bakteri uji seperti *E. coli* untuk menunjukkan ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk. Media ini dibuat dengan perbandingan media sebanyak 5,7 gram dalam 150 mL aquades kemudian dihomogenkan dan dipanaskan di atas *hot plate* sampai larutan berwarna jernih dan dilakukan sterilisasi dalam *autoclave*. Media steril MHA yang akan digunakan dituang dalam cawan petri steril sebanyak 20 mL.

### 3.4.2. Uji Aktivitas Antibakteri (Zona Hambat)

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak bunga telang, ekstrak jeruk nipis, dan kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan kertas cakram secara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Media uji aktivitas antibakteri yang digunakan yaitu *Muller Histon Agar* (MHA) yang dituangkan di cawan petri. Biakan murni *E. coli* diinokulasikan ke media MHA menggunakan *cotton swab* menggunakan metode *streakplate*. Disiapkan ekstrak etanol bunga telang dan ekstrak kombinasi bunga telang dan jeruk nipis sebanyak 20 µL setiap perlakuan. Direndam kertas cakram berukuran 6 mm ke dalam ketiga jenis kombinasi ekstrak yang telah dibuat sebelumnya, kemudian hasil rendaman kertas cakram diletakkan di media MHA yang telah diinokulasikan *E. coli* sebelumnya.

Kertas cakram juga direndam pada kontrol positif (antibiotik) dan kontrol negatif (larutan DMSO 1%), kemudian diletakkan di cawan petri berisi bakteri uji. Kemudian dilakukan inkubasi di suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam inkubasi, dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong (mm) dengan rumus rata-rata diameter horizontal dan vertikalnya seperti rumus pada gambar 3.1 Kemudian, dianalisis kategori penghambatannya berdasarkan literatur yang diketahui.



Gambar 3.1 Rumus perhitungan zona hambat uji antibakteri. (Rahmah dkk, 2024; Winastri dkk, 2020)

### 3.4.3. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dilakukan dengan metode mikrodilusi pada *96-well plate*. Total volume yang digunakan pada setiap sumuran *well plate* adalah 200  $\mu\text{L}$ . Kombinasi ekstrak terbaik pada uji zona hambat disiapkan untuk diuji lanjut MIC. Kombinasi ekstrak 25% T : 75 % J dibuat dengan perbandingan berturut-turut 0,125g : 0,375g kemudian dilarutkan dengan DMSO 1% sampai diperoleh volume 2mL. Bakteri *Escherichia coli* disuspensi terlebih dahulu mencapai kekeruhan setara McFarland 0,5 ( $\pm 1,5 \times 10^8$  CFU/mL) untuk memastikan jumlah inokulum yang seragam. Uji MIC menggunakan suspensi bakteri yang lebih encer yaitu  $5 \times 10^5$  CFU/mL sesuai dengan standar inokulum. Sehingga didapatkan OD (600)  $\pm 0,008-0,01$  yang sesuai untuk digunakan pada uji lanjut MIC. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 10 $\mu\text{L}$  dan ditambahkan dengan 90  $\mu\text{L}$  media MHB untuk mendapatkan OD (600) setara  $\pm 0,008-0,01$ .

Uji MIC dilakukan dalam 7 kali pengenceran meliputi konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625%, 0,78%, dan 0,39%. Perbandingan akhir dari volume MHB, ekstrak, dan suspensi bakteri yaitu 1:1:2. Media MHB dituang ke dalam setiap sumuran sebanyak 100 $\mu\text{L}$  yang dilakukan secara aseptis dalam LAF. Kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis yang telah disiapkan sebelumnya ditambahkan setelah MHB menggunakan mikrotipe yang berbeda sebanyak 100 $\mu\text{L}$  ke dalam sumuran pertama, kemudian dihomogenkan. Campuran MHB dan ekstrak pada sumuran pertama diambil sebanyak 100 $\mu\text{L}$ , kemudian dipindahkan ke sumuran kedua, lalu dihomogenkan kembali (langkah ini diulangi sampai sumuran ke tujuh). Larutan pengenceran pada sumuran ketujuh diambil sebanyak 100 $\mu\text{L}$

kemudian dibuang. Langkah ini dilakukan sebanyak tiga ulangan pada baris berikutnya.

Kontrol pada uji MIC dibuat sebanyak 4 perlakuan yaitu kontrol media MHB saja, kontrol media dan ekstrak, kontrol media dan bakteri, serta kontrol media, bakteri, dan antibiotik. Kontrol media diisi media MHB sebanyak 200 $\mu$ L. Kontrol media dan kombinasi ekstrak diisi media MHB sebanyak 100 $\mu$ L dan kombinasi ekstrak sebanyak 100 $\mu$ L. Kontrol media dan bakteri diisi media MHB sebanyak 100 $\mu$ L dan suspensi bakteri dalam MHB sebanyak 100 $\mu$ L. kemudian, kontrol media MHB-suspensi bakteri-antibiotik diisi secara berurutan yaitu 100 $\mu$ L, 33 $\mu$ L, dan 67 $\mu$ L.

Mikroplate diinkubasi pada suhu 37°C selama  $\pm 20$  jam. Hasil inkubasi diamati kekeruhannya secara kualitatif dan didokumentasi. Secara kuantitatif, hasil dilakukan pembacaan menggunakan ELISA READER (Diatek Dr-200BC) pada panjang gelombang 575nm untuk memperoleh nilai OD (*Optical Density*). Dianalisis hasil perhitungan OD nya kemudian dihitung ketetapan kekeruhan asli (bukan palsu hasil kekeruhan warna ekstrak) menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ of inhibition} = \frac{OD \text{ control} - OD \text{ treatment} * 100}{OD \text{ control}}$$

### 3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh diuji normalitas *Shapiro-Wilk* dan homogenitas *Levene* untuk mengetahui distribusi homogenitas data. Data dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Uji *Post Hoc Multiple Comparison* dengan metode *Mann-Whitney* untuk melihat adanya perbedaan atau tidak pada masing-masing perlakuan terhadap perlakuan yang lain maupun terhadap kontrol yang ada.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* terhadap *Escherichia coli*

Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* terhadap *Escherichia coli* dengan kombinasi konsentrasi perlakuan P1-P5 secara berturut-turut yaitu 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, 100% bunga telang, dan 100% jeruk nipis menunjukkan bahwa adanya potensi antibakteri yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada perlakuan P1, P2, P3, dan P5, tetapi tidak terlihat adanya zona hambat pada P4 (telang 100%). Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada setiap perlakuan setelah dikurangi dengan diameter *cakram disc* secara berurutan dari P1-P5 adalah 10.17mm, 2.67mm, 1.00mm, 0mm, dan 10.83mm. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada perlakuan kontrol yaitu K(-) 0mm, K(+) sebesar 25.83mm, dan kontrol asam askorbat sebesar 2.67mm. Zona hambat dari perlakuan P1-P5 serta kontrol ditunjukkan pada tabel (4.1).

Tabel 4.1 Hasil Uji Antibakteri Kombinasi Ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* terhadap *Escherichia coli*

| Bakteri                 | Perlakuan Kombinasi (%) | Rata-Rata Diameter Daya Hambat $\pm$ SD (mm) | Keterangan  |
|-------------------------|-------------------------|----------------------------------------------|-------------|
| <i>Escherichia coli</i> | P1 (T 25% : J 75%)      | $10.17 \pm 1.89$                             | Kuat        |
|                         | P2 (T 50 : J 50%)       | $2.67 \pm 2.08$                              | Lemah       |
|                         | P3 (T 75% : J 25%)      | $1.00 \pm 1.00$                              | Lemah       |
|                         | P4 (T 100%)             | 0                                            | Tidak ada   |
|                         | P5 (J 100%)             | $10.83 \pm 2.08$                             | Kuat        |
|                         | K (-)                   | 0                                            | Tidak ada   |
|                         | K (+)                   | $25.83 \pm 0.29$                             | Sangat kuat |
|                         | Kontrol Asam Askorbat   | $2.67 \pm 1.53$                              | Lemah       |

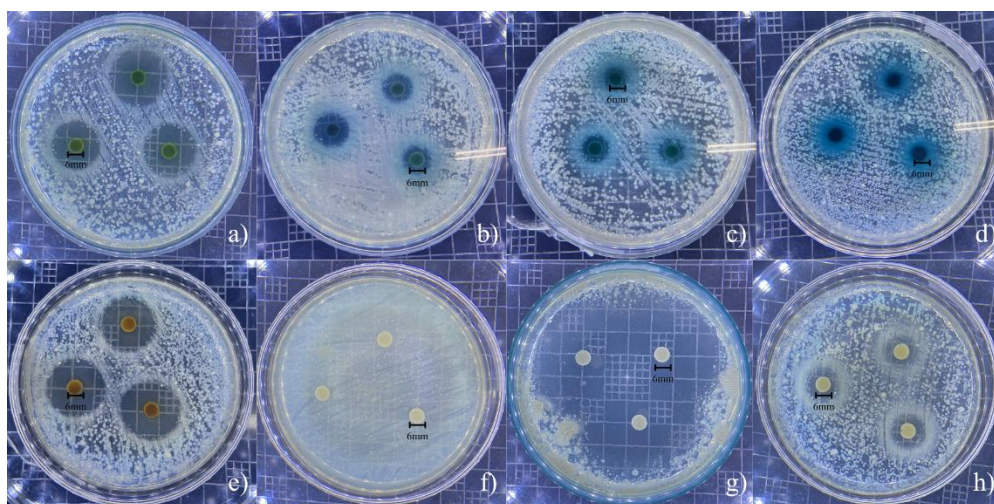
**Keterangan :**

T : Ekstrak Bunga Telang

J : Ekstrak Jeruk Nipis

K (-) : DMSO 1%

K (+) : Ciprofloxacin



Gambar 4.1 Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram disc.  
a) P1 = 25%T:75%J; b) P2 = 50%T:50%J; c) P3 = 75%T:25%J;  
d) P4 = 100%T; e) P5 = 100%J; f) K(-) DMSO 1%; g) K(+) Ciprofloxacin; h) Asam askorbat (Dokumentasi Pribadi)

Tabel 4.1 dan gambar 4.1 menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis terbaik yaitu pada kombinasi P1 (T 25% : J 75%) dengan diameter zona hambat rata-rata adalah  $10,17 \pm 1.89$  mm dan memiliki kategori penghambatan “kuat” terhadap *Escherichia coli*. Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan volume jeruk nipis yang lebih dominan dibandingkan

ekstrak bunga telang memiliki efektivitas antibakteri lebih tinggi dibandingkan dengan volume ekstrak bunga telang yang lebih banyak atau sama dengan volume ekstrak jeruk nipis. Hal tersebut diduga disebabkan karena beberapa faktor seperti penentuan konsentrasi kombinasi awal kedua ekstrak, metode ekstraksi dan jenis pelarut, kandungan metabolit sekunder setiap ekstrak, stabilitas ekstrak, bakteri target *Escherichia coli* yang termasuk bakteri gram negatif dengan dinding sel yang lebih kompleks, dan lain-lain. Sebagaimana dijelaskan juga oleh P.H. D.P., dkk (2025) dan Pupitasari & Sari (2023) bahwa perbedaan penggunaan metode ekstraksi dapat mempengaruhi rendeman dan kadar senyawa dalam ekstrak.

Perlakuan 2 dan 3 menunjukkan adanya penurunan besar zona hambat yang signifikan dibandingkan dengan P1 menjadi  $<5$  mm sehingga dikategorikan ke dalam penghambatan lemah. Diketahui bahwa seiring dengan penambahan volume ekstrak bunga telang menunjukkan adanya penurunan terhadap zona hambat yang dihasilkan, tetapi semakin bertambahnya volume ekstrak jeruk nipis menunjukkan adanya peningkatan lebar zona hambat. Terlihat juga pada ekstrak bunga telang 100% menunjukkan tidak adanya zona hambat, namun pada ekstrak jeruk nipis menunjukkan penghambatan kuat. Demikian pada kontrol asam askorbat menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk meskipun masih dalam kategori rendah. Hal ini menunjukkan adanya dugaan terbentuknya zona hambat bukan hanya disebabkan karena pengaruh metabolit sekunder setiap kombinasi ekstrak tetapi juga pengaruh pH atau asam. Li *et al* (2024) dalam artikel reviewnya menunjukkan bahwa *Escherichia coli* dapat bertahan hidup mendekati lingkungan netral, bakteri ini juga memiliki beberapa sistem pertahanan akan lingkungan asam yaitu AR 1-6 dan TCA, sehingga mampu bertahan pada lingkungan dengan pH

sampai 2 namun tidak dapat tumbuh melainkan hanya bertahan beberapa jam saja. Demikian, dapat diketahui bahwa bakteri ini diduga tidak mampu bertahan pada keasaman jeruk, sehingga seiring bertambahnya volume jeruk nipis zona hambat yang terbentuk semakin besar.

Perlakuan 4 (100% bunga telang) menunjukkan bahwa tidak ada zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram, kondisi demikian bukan berarti ekstrak bunga telang tidak memiliki potensi sebagai antibakteri tetapi dapat dipengaruhi oleh faktor lainnya. Konsentrasi awal bunga telang ditentukan berdasarkan referensi penelitian Ganis dkk (2022) dan Widyasanti & Febrianti (2024) yang menunjukkan ekstrak bunga telang pada konsentrasi 20% dengan jenis pelarut berbeda dan metode ekstraksi berbeda sudah terdapat zona hambat sekitar 6-7mm dengan kategori sedang (tetapi data belum tervalidasi apakah sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram). Hasil uji pendahuluan penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut zona hambat belum terbentuk sehingga mempertimbangkan untuk meningkatkan konsentrasi menjadi 25%, namun hasil akhir ekstrak bunga telang dengan metode ekstraksi maserasi 24 jam menggunakan pelarut 70% masih menghasilkan zona hambat yang lemah. Perbedaan metode ekstraksi, pelarut, ekstrak yang dihasilkan kemungkinan dapat mempengaruhi hasil dari potensi antibakterinya. Beberapa jurnal referensi juga menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang memiliki kemampuan antibakteri yang lemah-sedang sebagaimana yang dijelaskan pada penelitian Ganis dkk (2022), Jeyaraj *et al* (2024), Widyasanti & Febrianti (2024) berdasarkan pelarut dan metode ekstraksi.

Perlakuan 5 (100% ekstrak jeruk nipis) menghasilkan zona hambat sebesar  $10.83 \pm 2.08\text{mm}$  dengan kategori penghambatan kuat. Zona hambat tersebut lebih besar dibandingkan dengan perlakuan kombinasi terbaik P1, meskipun tidak berbeda secara signifikan. Perlakuan ini menunjukkan bahwa ekstrak jeruk nipis memiliki efektivitas lebih besar sebagai antibakteri pada *Escherichia coli* dibandingkan ekstrak bunga telang. Hasil tersebut diduga karena jeruk nipis memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri, seperti flavonoid, tanin, saponin, asam sitrat, minyak atsiri dan lain-lain (Sari dkk, 2021).

Penentuan konsentrasi dari ekstrak jeruk nipis disamakan dengan ekstrak bunga telang yaitu sebesar 25%, hal ini untuk menunjukkan efek sinergis jika dikombinasikan dengan perbandingan yang sama. Penentuan konsentrasi ini diduga menjadi salah satu faktor yang menyebabkan adanya dominasi dari pengaruh pemberian ekstrak jeruk nipis. Penelitian oleh Sari dkk (2021) menunjukkan bahwa konsentrasi 25% dari perasan kulit buah jeruk nipis menghasilkan rata-rata zona hambat pertumbuhan *E. coli* sebesar  $19.43 \pm 1.288\text{ mm}$  dan dikategorikan kuat sebagai antibakteri. Selain itu, penelitian oleh Prasetya dkk (2023) yang menunjukkan bahwa pada ekstrak kulit jeruk nipis dengan konsentrasi 20% telah memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat rata-rata sebesar  $13.7 \pm 1.5\text{ mm}$ . Pernyataan tersebut memperkuat dugaan adanya dominansi senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh jeruk nipis karena konsentrasi awal yang ditentukan bukan berdasarkan konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, melainkan konsentrasi yang telah

menunjukkan konsentrasi kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri seperti *E. coli*.

Mekanisme kerja antibakteri pada perlakuan 1 hingga 3 diduga didukung kuat oleh peran sinergisitas kandungan senyawa metabolit sekunder dari kedua ekstrak baik bunga telang maupun jeruk nipis. Bunga telang diduga mengandung antosianin, flavonoid, tanin, dan saponin yang diketahui memiliki aktivitas antimikroba. Penelitian oleh Jeyaraj *et al* (2022) menyatakan bahwa fraksi kaya antosianin dari *Clitoria ternatea* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan ekstrak kasar dan mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Pernyataan tersebut menunjukkan bahwa bentuk fraksi antosianin memiliki kemampuan antibakteri lebih optimal dibandingkan ekstrak kasar, karena antosianin lebih murni tidak terdapat campuran pelarut atau kandungan senyawa lain seperti pada penelitian ini. Antosianin sebagai antibakteri berperan untuk mengganggu metabolisme lipid membran, metabolisme asam amino, dan sistem energi sel bakteri sehingga pertumbuhan dari *Escherichia coli* menurun secara signifikan. Meskipun *E. coli* memiliki sistem pertahanan berupa membran luar yang kaya lipopolisakarida (LPS), paparan antosianin secara terus-menerus dapat mengganggu stabilitas membran dan menurunkan kemampuan adaptasi bakteri terhadap stres lingkungan.

Jeyaraj *et al* (2023) membuktikan bahwa antosianin tidak secara langsung menempel pada membran lalu merusaknya, melainkan adanya perubahan yang terjadi pada metabolit yang berhubungan dengan glyserophospholipid, asam amino, dan energi sel setelah terpapar oleh antosianin. Antosianin bunga telang tidak bekerja seperti antibiotik yang langsung dapat membunuh sel bakteri, tetapi

senyawa ini mengganggu metabolisme penting pada bakteri salah satunya pada *Escherichia coli*. Senyawa ini akan mengubah metabolisme lipid yang berperan membangun membran sel. Hal ini dapat mengakibatkan fosfolipid tidak terbentuk normal, membran tidak stabil, permeabilitas membran meningkat, sehingga mengakibatkan kebocoran membran.

Kebocoran membran tersebut dapat menyebabkan komponen sel seperti ion  $K^+$ , protein, asam amino, dan metabolit keluar dari dalam membran sel sehingga terjadi ketidakseimbangan osmotik. Antosianin dapat menyebabkan perubahan jalur metabolisme energi bakteri sehingga produksi energi dari bakteri dapat terganggu. Akibatnya terjadi penurunan produksi ATP, dimana ATP sendiri dibutuhkan untuk sintesis protein, transport nutrisi, sampai pembelahan sel. Penurunan produksi ATP mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan dari bakteri dan berkurangnya jumlah bakteri (Jeyaraj *et al*, 2022). Pernyataan-pernyataan tersebut menunjukkan bahwa antosianin murni berpotensi sebagai antibakteri meskipun dibuktikan hanya dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, tidak dengan potensi bunuh bakteri. Batasan dari penelitian ini adalah ekstrak bunga telang termasuk kedalam jenis ekstrak kasar atau masih terdapat campuran dari pelarut dan senyawa metabolit lain seperti flavonoid, saponin, tanin dan metabolit sekunder lain sehingga memungkinkan adanya pengaruh senyawa antibakteri lain selain dari antosianin.

*Clitoria ternatea* memiliki kandungan flavonoid yang memiliki kemampuan dalam membentuk protein ekstraseluler yang solubel terhadap dinding dan membran sel bakteri, kemudian menjadi terlarut dan mengakibatkan keluarnya senyawa intraseluler (ion, protein, dan asam nukleat) yang menyebabkan rusaknya

membran sel bakteri karena terganggunya metabolisme sel bakteri. Kandungan saponin pada bunga telang mampu menurunkan tegangan permukaan dari sel bakteri sehingga terjadi peningkatan permeabilitas sel bakteri, sehingga zat intraseluler akan keluar dari sel dan mengakibatkan kematian bakteri (PH, Dian Pramana *et al*, 2025). Selain peran senyawa dari bunga telang, kandungan metabolit sekunder ekstrak jeruk nipis diduga saling bersinergis dengan kandungan metabolit sekunder dari ekstrak bunga telang sehingga meningkatkan efektivitas antibakteri dari bunga telang.

Jeruk nipis mengandung senyawa metabolit sekunder yang juga dimiliki oleh bunga telang seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid sehingga kombinasi kedua ekstrak tersebut dinilai mampu menghasilkan kombinasi senyawa yang sinergis dan berpotensi besar sebagai antibakteri. Menurut Wong (2017) kulit jeruk nipis mengandung bahan aktif lain yang dapat memberi efek antibakteri seperti limonen, linalool, dan mirsen yang bekerja dengan merusak membran sel bakteri. Selain itu, diduga jeruk nipis memiliki kandungan minyak atsiri dan asam sitrat. Asam sitrat memiliki karakteristik yaitu ukuran molekul yang kecil, sangat larut dalam air, dan mudah berdifusi. Kandungan asam sitrat dari jeruk nipis mampu menurunkan pH lingkungan sehingga dapat mengganggu kestabilan membran luar *Escherichia coli* dan menyebabkan perubahan permeabilitas membran, sampai kebocoran komponen intraseluler.

Pernyataan tersebut diduga mendukung P1 menjadi perlakuan terbaik yang menunjukkan komposisi jeruk nipis yang lebih dominan memberikan efek antibakteri yang semakin besar juga. Besarnya zona hambat pada perlakuan P1 (25% bunga telang : 75% jeruk nipis) diduga disebabkan oleh tingginya proporsi

senyawa aktif jeruk nipis yang berperan dalam meningkatkan permeabilitas membran luar *Escherichia coli* (Alakomi *et al*, 2000). Asam sitrat pada jeruk nipis mampu menciptakan kondisi asam yang mengganggu kestabilan lapisan lipopolisakarida (LPS) pada membran luar bakteri Gram-negatif. Kerusakan struktur LPS menyebabkan membran menjadi lebih permeabel sehingga senyawa bioaktif lain lebih mudah memasuki sel bakteri. Selain itu, flavonoid dan minyak atsiri jeruk nipis dapat mengganggu integritas membran dan aktivitas enzim metabolik. Kondisi tersebut memungkinkan antosianin bunga telang berinteraksi lebih efektif dengan sistem metabolisme bakteri, termasuk metabolisme lipid membran dan metabolisme energi sebagaimana dilaporkan oleh Jeyaraj *et al* (2023). Akibat gangguan berlapis tersebut, pertumbuhan *E. coli* menjadi terhambat sehingga menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan perlakuan lain.

Sebaliknya, perlakuan 2 dan 3 mengalami penurunan besar dari zona hambat seiring dengan penambahan proporsi dari ekstrak bunga telang dan berkurangnya proporsi dari ekstrak jeruk nipis. Hal ini diduga karena adanya penurunan kandungan asam sitrat yang berperan dalam merusak pertahanan membran luar sehingga senyawa metabolit sekunder yang lain seperti flavonoid, antosianin, dan lain-lain sulit untuk menembus membran luar *Escherichia coli* yang memiliki ketahanan LPS. Diduga terdapat interaksi antar senyawa yang menyebabkan peningkatan konsentrasi bunga telang tidak selalu diikuti peningkatan aktivitas antibakteri. Peningkatan proporsi ekstrak bunga telang menunjukkan pula peningkatan antosianin, akibatnya viskositas meningkat yang dapat mengurangi difusi senyawa pada media agar, dan berakhir pada penurunan besar zona hambat.

Antosianin, flavonoid, tanin sendiri memiliki ukuran molekul relatif lebih besar dibanding asam sitrat.

Difusi senyawa pada media juga dijelaskan oleh PH, Dian Pramana *et al* (2025) bahwa aktivitas dari ekstrak bunga telang sebagai antibakteri dapat dipengaruhi oleh jumlah media yang digunakan. Semakin banyak media yang dituangkan pada cawan petri, maka akan mempengaruhi difusi ekstrak pada media yang telah diinokulasikan suspensi bakteri uji. Metode difusi cakram diketahui memiliki prinsip dimana zat antibakteri akan berdifusi melewati MHA sehingga akan terbentuk gradien konsentrasi seperti yang terlihat pada gambar 4.1.

Uji zona hambat menunjukkan kombinasi konsentrasi terbaik dengan perbandingan ekstrak bunga telang dan jeruk nipis yaitu 25% : 75% dengan hasil zona hambat sebesar 10,17mm (kuat). Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui setiap senyawa memiliki takaran atau kadar masing-masing untuk menghasilkan zona hambat terbaik. Hal ini berkaitan dengan firman Allah SWT dalam Surah Al A'la ayat 3 yang berbunyi :

وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ ۖ

Artinya : “Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk.”  
(QS Al A'la [87]: 3)

Tafsir Kemenag 2019 menyampaikan bahwa, Dialah pula yang menentukan kadar masing-masing ciptaan-Nya dengan kadar dan ukuran yang sempurna, dan memberi petunjuk kepada makhluk hidup apa yang menjadi kebutuhan dan kemaslahatan hidupnya melalui naluri yang Allah ciptakan pada diri mereka [Al A'la:3]. Ayat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu baik makhluk hidup maupun benda mati sesuai dengan kadarnya tidak kurang atau lebih, seperti halnya pada penelitian ini dimana kandungan metabolit

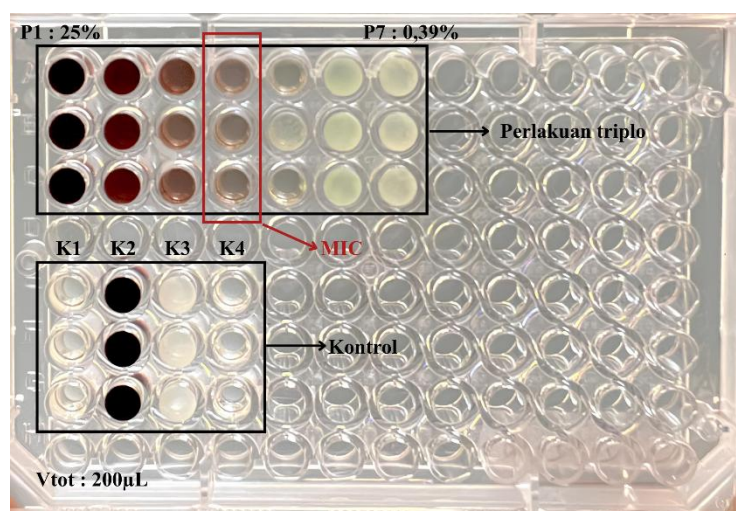
sekunder pada bunga telang yang berpotensi sebagai antibakteri dapat menunjukkan aktivitas antibakterinya lebih baik ketika dikombinasikan dengan senyawa metabolit dari jeruk nipis dengan kadar tertentu melalui penelitian sehingga menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri alami yaitu P1 (25% ekstrak bunga telang : 75% ekstrak jeruk nipis).

#### **4.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)**

Uji KHM ini dilakukan sebagai uji lanjut setelah ditentukannya hasil zona hambat terbaik yaitu P1 untuk mengetahui keakuratan konsentrasi terendah penghambatan yang tidak dipengaruhi media agar. Hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini menunjukkan bahwa dari ketujuh sumuran yang ditentukan, sumuran ke empat atau pada konsentrasi 3,125% larutan jernih dan diduga menjadi konsentrasi hambat minimum, namun ketika uji nilai absorbansi menggunakan *ELISA reader* A5 (konsentrasi 1,562%) menunjukkan nilai absorbansi terendah dibanding seluruh perlakuan. Pengenceran 1-3 atau konsentrasi 25%-6,25% larutan memiliki nilai absorbansi yang tinggi, karena dipengaruhi warna ekstrak sehingga sulit untuk diamati tingkat kejernihannya menggunakan kasat mata maupun menggunakan alat. Sumuran ke enam dan ke tujuh menunjukkan adanya endapan keruh di dasar sumuran dan warna larutan yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan dari *Escherichia coli*. Hasil uji MIC terlihat pada gambar 4.2.

Kontrol media *Mueller Histon Broth* atau MHB (K1) menunjukkan media jernih atau tidak terkontaminasi bakteri. Kontrol media dan ekstrak (K2) menunjukkan warna yang ungu pekat yang disebabkan adanya pengaruh interaksi

antosianin ekstrak bunga telang dan asam dari jeruk nipis. Kontrol media dan bakteri menunjukkan adanya endapan keruh di dasar media yang menunjukkan adanya pertumbuhan optimal dari *Escherichia coli* pada MHB. Kontrol terakhir, campuran media, suspensi bakteri, dan antibiotik ciprofloxacin menunjukkan larutan berwarna jernih diduga antibakteri bekerja efektif untuk menekan pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil uji KHM dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 K1 : Kontrol Media; K2 : Kontrol Media + Ekstrak; K3 : Kontrol Media + Bakteri; K4 : Kontrol Media + bakteri + antibiotik (Dokumentasi Pribadi)

Tabel 4.2 Tingkat Kekeruhan Hasil Uji MIC secara Visual atau Kualitatif

| Konsentrasi dalam Sumuran | Tingkat Kekeruhan | Keterangan            |
|---------------------------|-------------------|-----------------------|
| Sumuran 1 (25%)           | -                 | Koreksi warna larutan |
| Sumuran 2 (12,5%)         | -                 | Koreksi warna larutan |
| Sumuran 3 (6,25%)         | -                 | Jernih                |
| Sumuran 4 (3,125%)        | -                 | Jernih                |
| Sumuran 5 (1,5625%)       | +                 | Keruh (ada endapan)   |
| Sumuran 6 (0,78%)         | +++               | Keruh sekali          |
| Sumuran 7 (0,39%)         | +++               | Keruh sekali          |
| K1                        | -                 | Jernih                |
| K2                        | -                 | Jernih                |
| K3                        | +++               | Keruh sekali          |
| K4                        | -                 | Jernih                |

Tabel 4.3 Nilai Rata-Rata Absorbansi MIC

| Kelompok         | OD Rata-Rata<br>$\pm$ SD | OD<br>Terkoreksi    | %Inhibisi                    | Keterangan                                 |
|------------------|--------------------------|---------------------|------------------------------|--------------------------------------------|
| <b>Perlakuan</b> |                          |                     |                              |                                            |
| A1 (25%)         | 3.437 $\pm$ 0.267        | 2.947               | -87.0%                       | Koreksi warna                              |
| A2 (12,5%)       | 2.084 $\pm$ 1.050        | 1.594               | -1.1%                        | Koreksi warna                              |
| A3 (6,25%)       | 1.274 $\pm$ 0.154        | 0.784               | 50.3%                        | Terhambat                                  |
| A4<br>(3,125%)   | 0.990 $\pm$ 0.265        | 0.500               | 68.3%                        | Terhambat                                  |
| A5<br>(1,563%)   | 0.679 $\pm$ 0.127        | 0.189               | 88.0%                        | Terhambat                                  |
| A6<br>(0.780%)   | 2.279 $\pm$ 0.048        | 1.789               | -13.5%                       | Tumbuh                                     |
| A7<br>(0,390%)   | 2.078 $\pm$ 0.044        | 1.588               | -0.8%                        | Tumbuh                                     |
| <b>Kontrol</b>   |                          |                     |                              |                                            |
| K1               | 0.490 $\pm$ 0.196        | 0,000<br>(baseline) | —                            | Kontrol media                              |
| K2               | 3.893 $\pm$ 0.186        | —                   | —                            | Kontrol media -<br>ekstrak                 |
| K3               | 2.066 $\pm$ 0.053        | 1.576               | 0% (acuan<br>100%<br>tumbuh) | Kontrol media -<br>bakteri                 |
| K4               | 0.777 $\pm$ 0.434        | 0.287               | 81.789                       | Kontrol media -<br>bakteri -<br>antibiotik |

Tabel 4.3 menunjukkan beberapa perlakuan dengan hasil inhibisi yang berbeda-beda. Persentase inhibisi ini menunjukkan seberapa besar perlakuan mampu menekan pertumbuhan bakteri secara proporsional dibandingkan kondisi tanpa hambatan. Semakin besar persentase % inhibisi maka semakin bakteri mendapat tekanan dan tidak dapat tumbuh karena adanya pengaruh perlakuan. Sehingga dari tabel 4.3 ditunjukkan bahwa pada A1 dan A2 menghasilkan % inhibisi negatif yaitu -87.0% dan -1,1%, hal ini dapat disebabkan karena adanya pengaruh warna antosianin sehingga meningkatkan kekeruhan larutan pada A1 dan A2. Sedangkan pada A3-A5 ditunjukkan bahwa adanya %inhibisi yaitu secara berturut-turut 50.3%, 68.3%, dan 88,0%. Pada A3 secara visual masih terdapat

pengaruh dari warna antosianin ekstrak sehingga menambah kekeruhan dari nilai OD ataupun hasil inhibisi. A4 diduga menjadi kandidat MIC karena memiliki nilai % inhibisi lebih akurat dibanding dengan A5 dan diduga telah sedikit terdapat pengaruh dari warna antosianin.

Well A5 diduga menjadi data anomali karena menghasilkan data absorbansi yang berbeda signifikan dengan A6 sehingga tidak dapat secara langsung dijadikan nilai MIC. Konsentrasi minimum penghambatan ditentukan berdasarkan mekanisme absorbansi yang akan menurun konsisten dari konsentrasi tertinggi ke konsentrasi minimal penghambatan dan akan naik kembali secara konsisten ketika telah mencapai konsentrasi minimum penghambatan sampai konsentrasi terendah (Jubair *et al.*, 2022). Terdapat data yang tidak konsisten pada sumuran ke lima, dimana data menurun dengan OD  $0.679 \pm 0.127$ , lalu naik kembali secara signifikan pada sumuran ke tujuh menjadi  $2.279 \pm 0.048$ . Ketidakkonsistensian pola ini menjadi pertimbangan untuk penentuan nilai MIC pada konsentrasi tersebut karena ada faktor pengganggu yang mempengaruhi keakuratan pembacaan OD (Clarhaut *et al.*, 2025).

Secara visual, terlihat bahwa sumuran ke lima atau konsentrasi 1,562% pada replika kedua menunjukkan adanya endapan pada bagian dasar dari sumuran. Endapan tersebut diduga terjadi karena dua sebab yaitu sel bakteri yang mati atau adanya presipitat dari komponen ekstrak yang mengendap pada konsentrasi tertentu sehingga tidak lagi terbaca sebagai absorbansi oleh *Elisa Reader*. Pembentukan sedimen pada dasar sumuran uji ketika menggunakan ekstrak tanaman dapat menghambat cahaya yang melewatinya dan mengganggu pembacaan pada

*microplate reader*. Adanya ketidakkonsistensian dan ketidakakuratan tersebut, perlu dikonfirmasi dengan uji lanjut ke uji MBC.

Pengujian MIC menggunakan metode *broth microdilution* standar yang tersedia saat ini lebih optimal digunakan untuk senyawa tunggal, bukan untuk ekstrak tanaman kasar (*crude extract*), sehingga penerapannya pada ekstrak tanaman dapat mengalami beberapa tantangan, termasuk interferensi warna dan pembentukan presipitat sebagaimana yang terjadi pada penelitian ini. Antosianin dari bunga telang secara inheren bersifat berwarna intensif. Pernyataan tersebut menunjukkan bahwa pembacaan OD sebagai penentu pertumbuhan bakteri tidak dapat digunakan secara langsung tanpa koreksi yang memadai (Liu *et al*, 2007).

Penentuan nilai KHM pada penelitian ini ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah dimana endapan bakteri tidak terbentuk dan warna larutan jernih. Hal ini sesuai dengan pernyataan Andrews (2001) & Jubair *et al* (2022) bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada uji antibakteri ditentukan berdasarkan konsentrasi antibakteri terendah yang mampu menghambat bakteri yang dapat diketahui dengan warna larutan yang jernih setelah inkubasi semalam. Semakin pekat ekstrak maka semakin besar penghambatan bakteri dimana ditunjukkan dengan warna larutan yang jernih. Sebaliknya, semakin rendah konsentrasi ekstrak maka bakteri yang tumbuh semakin banyak sehingga menunjukkan warna larutan yang keruh.

Berdasarkan pernyataan di atas dan data analisis yang diperoleh dari penelitian yang ditunjukkan pada grafik gambar 4.3, diduga konsentrasi 3,125% (well ke empat) menunjukkan nilai KHM. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak masih efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*

meskipun telah mengalami pengenceran bertingkat dari konsentrasi awal yaitu 25%.

Rendahnya nilai KHM yang dihasilkan sejalan dengan besarnya zona hambat pada perlakuan P1 (25% bunga telang : 75% jeruk nipis), sehingga diduga bahwa kombinasi tersebut merupakan formasi paling efektif dalam penelitian ini. Hal tersebut juga menunjukkan bahwa efektivitas kombinasi tidak hanya ditentukan berdasarkan tingginya proporsi ekstrak jeruk nipis tetapi kombinasi dan adanya sinergisitas kedua ekstrak, sehingga meskipun semakin rendah konsentrasinya efektivitasnya masih aktif sebagai antibakteri.

Uji KHM menggunakan metode *microdilution broth* ini dilakukan sebagai uji lanjutan dari metode difusi cakram untuk mengetahui efektivitas antibakteri kombinasi ekstrak pada media cair. Diketahui bahwa metode difusi agar memiliki keterbatasan dimana senyawa dari ekstrak diduga tidak dapat berdifusi secara optimal dalam media agar sehingga kemungkinan hasil dari zona hambat tidak selalu mencerminkan aktivitas antibakteri yang sebenarnya (Eloff, 2019).

Hasil dari uji MIC menunjukkan bahwa dengan konsentrasi rendah yaitu 3,125% dari kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis sudah menunjukkan potensi dalam penghambatan terhadap *Escherichia coli*, dengan begitu diduga kombinasi P1 memiliki potensi optimal sebagai antibakteri terhadap bakteri uji. Potensi antibakteri dari tanaman ini berkaitan dengan kebesaran Allah SWT yang telah menciptakan tumbuh-tumbuhan dengan beragam manfaatnya salah satunya sebagai tanaman obat sebagaimana yang dijelaskan Allah SWT dalam Al Quran Surah An Nahl ayat 69 yang berbunyi:

ثُمَّ كُلِّي مِنْ كُلِّ الشَّجَرِ فَاسْلِكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلًّا يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ  
أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿٦٩﴾

Artinya : “Kemudian, makanlah (wahai lebah) dari segala (macam) buah-buahan lalu tempuhlah jalan-jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu).” Dari perutnya itu keluar minuman (madu) yang beraneka warnanya. Di dalamnya terdapat obat bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir.” (QS An Nahl [16]: 69)

Tafsir Al Misbah (2002) menafsirkan tentang ayat ini bahwa Allah SWT telah memerintahkan lebah dengan naluri yang begitu mengagumkan, lebah dengan berbagai kegiatan yang bermanfaat dengan sangat mudah, bahkan bermanfaat untuk manusia. Ayat ini menyampaikan bahwa *keluar dari dalam perutnya* setelah lebah menghisab sari kembang-kembang, sejenis minuman yang sangat lezat yaitu madu yang *bermacam-macam warnanya* sesuai dengan waktu dan jenis sari kembang yang dihisapnya. *Didalamnya* yaitu madu itu *terdapat obat penyembuhan bagi manusia* walaupun kembang yang dimakannya ada yang bermanfaat dan ada yang berbahaya bagi manusia. *Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda kekuasaan dan kebesaran Allah bagi orang-orang yang berpikir.* Tafsir ini menunjukkan bahwa kebesaran Allah SWT dalam menciptakan lebah yang dapat memberikan manfaat bagi kehidupan terutama bagi manusia sebab madu yang dihasilkan dapat menjadi penyembuh bagi manusia (meskipun tidak dapat digeneralisir sebagai obat semua penyakit). Namun, madu yang berasal dari bunga-bunga yang dihisab mengisyaratkan bahwa terdapat bunga yang memiliki manfaat sehingga dapat tercipta madu yang bermanfaat juga (Shihab, 2002).

Tafsir Kemenag (2019), melanjutkan ilhamnya kepada lebah, Allah berfirman, ‘Kemudian makanlah, yakni isaplah, dari segala macam bunga dari

buah-buahan pada pepohonan yang besar maupun kecil, lalu tempuhlah jalan yang telah ditentukan oleh Tuhan Pencipta dan Pemelihara-mu, yang telah memudahkan bagimu.” Dengan izin dan kekuasaan Allah, dari perut lebah itu keluar sejenis minuman yang amat lezat berupa madu yang bermacam-macam warna dan rasanya. Di dalamnya terdapat kandungan yang bermanfaat bagi daya tahan tubuh dan obat yang dapat menyembuhkan bagi beberapa penyakit manusia. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan dan kebesaran Allah bagi orang yang berpikir.

Ayat di atas menjelaskan bahwa setiap hasil yang berasal dari alam terdapat manfaat bagi kesehatan manusia yang mana dalam ayat tersebut telah diisyaratkan dan disampaikan terkait fenomena lebah penghasil madu yang berasal dari bagian tumbuhan (buah) sebagai tanda kebesaran Allah bagi orang-orang yang berpikir. Tafsir ayat ini menunjukkan bahwa Allah tidak hanya menciptakan makhluk hidup, tetapi juga menyediakan berbagai bahan alami yang dapat dimanfaatkan dalam kesehatan, seperti adanya antibakteri. Dalam konteks penelitian ini, aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis terhadap *Escherichia coli* merupakan salah satu bentuk pengungkapan manfaat tumbuhan yang Allah ciptakan. Hasil MIC sebesar 3,125% menunjukkan bahwa pada konsentrasi tertentu kombinasi kedua tanaman tersebut masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga menjadi bukti ilmiah bahwa sumber daya alam mengandung potensi bioaktif yang dapat dimanfaatkan untuk kesehatan manusia. Sejalan dengan penutup ayat "...sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda bagi kaum yang berpikir", penelitian ilmiah terhadap tanaman obat ini sebagai bentuk tafakkur terhadap ciptaan Allah SWT.

Rasulullah SAW dalam sebuah haditsnya bersabda bahwa:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya : “Setiap penyakit ada obatnya, jika obatnya mengenai penyakit, maka sembuhlah dengan izin Allah.” [HR. Muslim 4084].

Hadist tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit ada obatnya dan jika obat tersebut tepat maka atas izin Allah SWT penyakit tersebut dapat sembuh. Penjelasan tersebut berkaitan dengan penelitian ini, dimana penelitian ini berupaya untuk mencari konsentrasi kombinasi yang tepat sehingga dapat menjadi antibakteri yang baik dan bekerja secara optimal untuk bakteri patogen. Penelitian ini sebagai ikhtiar untuk mencari alternatif antibakteri alami yang dapat dimanfaatkan masyarakat luas. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi P1 yaitu 25% ekstrak bunga telang : 75% ekstrak jeruk nipis dapat menjadi penghambat pertumbuhan pada *Escherichia coli*, sehingga penelitian ini dapat dijadikan pendahuluan dan diharapkan penelitian selanjutnya dapat melanjutkan penelitian ini lebih detail bahkan dapat meneliti reaksi senyawa-senyawa pada kombinasinya.

Data hasil penelitian ini dianalisis menggunakan SPSS untuk menguji normalitas dan homogenitas sehingga dapat ditentukan langkah uji statistik setelahnya. Uji normalitas data dilakukan menggunakan *Shapiro Wilk* untuk mengetahui data penelitian ini terdistribusi normal atau tidak. Setelah diuji menggunakan *Shapiro Wilk* hasilnya *p-value* adalah  $p > 0,05$ , namun terdapat data dengan sig. bernilai 0,00 sehingga diketahui bahwa data tidak terdistribusi normal seluruhnya, karena pada perlakuan kontrol (+) dan kontrol asam askorbat nilai sig < 0,05. 100% ekstrak bunga telang dan DMSO 1% tertulis tanda (-) diduga karena setiap ulangan memiliki angka yang sama, sehingga data dikatakan tidak tersistribusi normal seluruhnya.

Uji homogenitas dilakukan menggunakan Uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas dari data. Pada uji homogenitas didapatkan nilai  $\text{sig}=0,004$  dengan nilai  $p < 0,05$  dapat dikatakan bahwa data tidak homogen. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas disimpulkan bahwa data tidak dapat diuji menggunakan uji Anova (parametrik), sehingga uji lanjut dilakukan menggunakan uji *Kruskall Wallis* (non-parametrik) (Sari *et al.*, 2021).

Sari *et al* (2021) menyatakan bahwa uji *Kruskall Wallis* dilakukan untuk mengetahui apakah data yang didapatkan memiliki perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil dari uji *Kruskall Wallis* didapatkan  $\text{sig.} = 0,003$ , dengan  $p < 0,05$  berarti dapat dikatakan bahwa varian zona hambat pada media MHA memiliki perbedaan antar kelompok. Namun, untuk membuktikan perbedaan nyata atau tidak pada setiap perlakuan dilakukan uji lanjut *Mann-Whitney*. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa beberapa kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ), sedangkan kelompok lainnya tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ).

Penelitian ini sangat berhubungan dengan pembahasan tentang muamalah (Muamalah ma'Allah, Muamalah Ma'annas, Muamalah Ma'al alam). Muamalah ma'Allah menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai tumbuhan dengan manfaat yang dapat dimanfaatkan manusia untuk menjaga kesehatan. Potensi antibakteri yang dimiliki bunga telang dan jeruk nipis merupakan salah satu bentuk tanda kebesaran Allah yang menunjukkan bahwa sumber daya alam yang diciptakan-Nya mengandung hikmah dan manfaat bagi kehidupan manusia. Oleh karena itu, penelitian terhadap tumbuhan obat merupakan salah satu bentuk ikhtiar dalam menggali dan mensyukuri nikmat Allah SWT.

Muamalah Ma'annas, terkait dengan pengembangan sumber antibakteri alami dari bunga telang dan jeruk nipis yang berpotensi memberikan manfaat bagi masyarakat luas sebagai alternatif bahan alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Maka dari itu, masyarakat diharapkan dapat memanfaatkan potensi yang ada di lingkungan sekitar dan mengurangi penggunaan bahan kimia yang dapat memberikan efek berbahaya bagi kesehatan jika dikonsumsi secara berkelanjutan.

Muamalah Ma'al Alam, berkaitan dengan pemanfaatan bunga telang dan jeruk nipis sebagai sumber antibakteri alami mencerminkan upaya pengelolaan dan pemanfaatan sumber daya alam secara bijaksana. Penelitian ini menunjukkan bahwa keanekaragaman hayati yang tersedia di lingkungan memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai bahan kesehatan yang lebih ramah lingkungan dibandingkan penggunaan bahan sintetis secara berlebihan. Oleh karena itu, manusia memiliki tanggung jawab untuk menjaga, melestarikan, dan memanfaatkan alam secara berkelanjutan.

## **BAB V PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian terkait uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* yang telah dilakukan dapat ditunjukkan kesimpulan bahwa :

1. Kombinasi ekstrak bunga *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* yang menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik yaitu pada P1 dengan perbandingan kombinasi berturut-turut sebesar 25% : 75% atau 1:3 dengan menghasilkan zona hambat sebesar  $10,17 \pm 1.89$  mm, sehingga termasuk ke dalam kategori penghambatan “kuat”.
2. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan 1 (P1) merupakan kombinasi terbaik sehingga dilakukan uji lanjut untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau MIC. Setelah dilakukan uji lanjut MIC didapatkan bahwa konsentrasi yang diduga sebagai kandidat MIC pada penelitian ini yaitu P1 pada konsentrasi 3,125%. Hal ini diduga karena pada konsentrasi tersebut larutan berwarna jernih sehingga diduga terdapat aktivitas penghambatan dari kombinasi ekstrak terhadap *Escherichia coli*.

### **5.2 Saran**

Saran dari penulis untuk penelitian selanjutnya yaitu diharapkan dapat memperhatikan berbagai aspek dalam penelitian seperti kedalaman pemahaman akan uji yang dilakukan secara teori, metodologi, *practical*, sehingga hasil dari

penelitian didapatkan hasil yang akurat dan valid. Saran perbaikan untuk penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian dilakukan sampai uji *Minimum Bacteriosida Concentration* (MBC) untuk mengetahui pada minimal konsentrasi berapa kombinasi ekstrak dapat membunuh bakteri ini.
2. Bahan-bahan uji seperti ekstrak, bakteri uji, atau larutan uji dan lain-lain dilakukan pemeliharaan dengan baik (suhu penyimpanan, perlakuan bahan, lama waktu penyimpanan) sehingga mengurangi resiko kerusakan bahan yang digunakan.
3. Dipastikan pada tahap penguapan (evaporasi) ekstrak, seluruh pelarut telah teruapkan seluruhnya, sehingga tidak ada pengaruh pelarut dalam uji antibakterinya.
4. Mengkaji literatur terkait dengan uji MIC pada ekstrak tanaman yang berwarna, seperti menyiapkan kontrol untuk setiap pengenceran ekstrak (kontrol media dan ekstrak setiap pengenceran), menggunakan indikator kolorimetri resazurin, TTC atau sejenisnya sehingga diketahui perbedaan OD secara valid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aghapour, Z., Gholizadeh, P., Ganbarov, K., Bialvaei, A. Z., Mahmood, S. S., Tanomand, A., ... & Kafil, H. S. (2019). Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae. *Infection and drug resistance*, 965-975. <https://doi.org/10.2147/IDR.S199844>
- Aji, O. R. (2020). Analisis resistensi antibiotik pada bakteri yang berasosiasi dengan lalat (*Musca domestica*). *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 12(1), 11-16. <https://doi.org/10.25134/quagga.v12i1.2026>
- Alakomi, H. L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., & Helander, I. M. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and environmental microbiology*, 66(5), 2001-2005. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2001-2005.2000>
- Alby, K., & Nachamkin, I. (2016). Gastrointestinal infections. *Microbiology Spectrum*, 4(3), 10-1128. <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.DMIH2-0005-2015>
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl\_1), 5-16. [https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl\\_1.5](https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5)
- Anggita, D., Nurisyah, S., & Wiriansya, E. P. (2022). Mekanisme kerja antibiotik. *UMI Medical Journal*, 7(1), 46-58. <https://doi.org/10.33096/umj.v7i1.149>
- Asy-Syaukani, A.M.A.M. (2008). *Tafsir Fathul Qadir Jilid 7*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Baskara, A. R., Wijaya, E. S., & Abrory, T. (2022). Diagnosis Penyakit Saluran Pencernaan Berbasis Android Menggunakan Metode Fuzzy Inference System TSUKAMOTO. *INFOTECH journal*, 8(2), 52-59. <https://doi.org/10.31949/infotech.v8i2.2882>
- Banerjee, D., Choo, W. S., & Azizi, J. (2022). Antibacterial activity of water extract, solvent extract, and the anthocyanin-rich fraction of *Clitoria ternatea* flower. *Frontiers in Microbiology*, 13, 943697. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.943697>
- Beaugerie, L., & Petit, J. C. (2004). Antibiotic-associated diarrhoea. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 18(2), 337-352. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2003.10.002>
- Bernaitis, L., Priya, B., Ezhilarasu, A., & Shenoy, R. P. (2024). Isolation and molecular characterization of multi-drug resistant uropathogenic *Escherichia coli* from urine samples: insights into urinary tract infection management. *The Microbe*, 5, 100185. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100185>
- CDC. (2017). *Antibiotic Use in the United States : Progress and Opportunities*. GA: US Department of Health and Human Services, Atlanta.
- Charurungsipong, P., Tangduangdee, C., Amornraksa, S., Asavasanti, S., & Lin, J. (2020). Improvement of anthocyanin stability in butterfly pea flower extract by co-pigmentation with catechin. In *E3S web of conferences*, 141 (03008). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202014103008>

- Chung, P. Y., Navaratnam, P., & Chung, L. Y. (2019). Proposing standardized methods for antibacterial testing of plant extracts: Broth microdilution and agar dilution methods. *Journal of Applied Microbiology*, 126(2), 441–455. <https://doi.org/10.1111/jam.14187>
- Clarhaut, J., Moreau, J., Collet, T., Babiard, E., Aranzana-Climent, V., Marchand, S., ... & Buyck, J. M. (2025). Optimizing antimicrobial susceptibility testing: cost and environmental benefits of MIC volume reduction. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 69(12), e00704-25. <https://doi.org/10.1128/aac.00704-25>
- Clarke, G., Stilling, R. M., Kennedy, P. J., Stanton, C., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2014). Minireview: gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Molecular endocrinology*, 28(8), 1221-1238. <https://doi.org/10.1210/me.2014-1108>
- Conway, T., & Cohen, P. S. (2015). Commensal and pathogenic *Escherichia coli* metabolism in the gut. *Metabolism and bacterial pathogenesis*, 343-362.
- Dietert, R. R., & Dietert, J. M. 2015. The microbiome and sustainable healthcare. In *Healthcare*, 3 (1), 100-129. MDPI. <https://doi.org/10.3390/healthcare3010100>
- Eloff, J. N. (2019). Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC complementary and alternative medicine*, 19(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2519-3>
- Erikawati, D., Santosaningsih, D., & Santoso, S. (2016). Tingginya prevalensi MRSA pada isolat klinik periode 2010-2014 di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, Indonesia. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29(2), 149-156.
- Febrianti, F., Widyasanti, A., & Nurhasanah, S. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Bakteri Patogen. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 18(2), 234-241.
- Firizki. (2013). Pola Bakteri dari Isolat Urin Pasien Infeksi Saluran Kemih di 3 Tempat berbeda di Indonesia. *Jurnal Universitas Padjajaran* 11: 20-26.
- Fleckenstein, J. M., Hardwidge, P. R., Munson, G. P., Rasko, D. A., Sommerfelt, H., & Steinsland, H. (2010). Molecular mechanisms of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. *Microbes and infection*, 12(2), 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.10.002>
- Foster, J. W. (2004). *Escherichia coli* acid resistance: tales of an amateur acidophile. *Nature Reviews Microbiology*, 2(11), 898-907.
- Frisca, I. Z., Lindawati, N. Y., & Murtisiwi, L. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ESBL. *Jurnal Farmasi*, 2(1), 38-44.
- Gallagher, C. J., & MacCougall, C. (2018). Antibiotics simplified fourth edition University of Callifornia. USA: Jones Bartlett Learning, 106-8.
- Ganis B.A., Ulfa A.M., & Nofita. (2022). Uji efektivitas ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam sediaan gel hand sanitizer. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 9(2): 721. <http://ejournalmalahayati.ac.id/index.php/kesehatan>
- Gibson, G. R. (2004). Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition Supplements*, 1(2), 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.09.005>

- Gill, S. R., Pop, M., DeBoy, R. T., Eckburg, P. B., Turnbaugh, P. J., Samuel, B. S., ... & Nelson, K. E. (2006). Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *science*, 312(5778), 1355-1359.  
<https://doi.org/10.1126/science.1124234>
- Govindarajan, D. K., Viswalingam, N., Meganathan, Y., & Kandaswamy, K. (2020). Adherence patterns of *Escherichia coli* in the intestine and its role in pathogenesis. *Medicine in Microecology*, 5, 100025.  
<https://doi.org/10.1016/j.medmic.2020.100025>
- Guarner, F., & Malagelada, J. R. (2003). Gut flora in health and disease. *The lancet*, 361(9356), 512-519.  
[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(03\)12489-0/abstract?cc=y%3D](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(03)12489-0/abstract?cc=y%3D)
- Habibi, A. R., & Johannes, E. (2022). Potensi Senyawa Bioaktif Bajakah *Spatholobus litoralis* Hassk Sebagai Antimikroba Dengan Cara In-Vitro dan In-Silico. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 13(1).
- Hasibuan, F. E. B., & Kolondam, B. J. (2017). Interaksi antara mikrobiota usus dan sistem kekebalan tubuh manusia. *Jurnal Ilmiah Sains*, 35-42.  
<https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.15221>
- Hilda, H. (2015). Pola Resistensi Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Berbagai Antibiotik. *Husada Mahakam*, 4(1), 11-17.
- Holderman, M. V., De Queljoe, E., & Rondonuwu, S. B. (2017). Identifikasi Bakteri Pada Pegangan Eskalator di Salah Satu Pusat Perbelanjaan Di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 13.  
<https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.14901>
- ITIS. (2012). ITIS Standart Report Page: *Escherichia coli*. United States: Integrated Taxonomy Information System.
- Jeyaraj, E. J., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2022). Antioxidant, cytotoxic, and antibacterial activities of *Clitoria ternatea* flower extracts and anthocyanin-rich fraction. *Scientific reports*, 12(1), 14890.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-19146-z>
- Jeyaraj, E. J., Han, M. L., Li, J., & Choo, W. S. (2023). Metabolic perturbations and key pathways associated with the bacteriostatic activity of *Clitoria ternatea* flower anthocyanin fraction against *Escherichia coli*. *Access microbiology*, 5(6), 000535-v5. <https://doi.org/10.26180/21687398.v1>
- Jubair, N., R, M., Fatima, A., Mahdi, Y. K., & Abdullah, N. H. (2022). Evaluation of catechin synergistic and antibacterial efficacy on biofilm formation and *acrA* gene expression of uropathogenic *E. coli* clinical isolates. *Antibiotics*, 11(9), 1223. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091223>
- Jurnal, Y. D., Sayoet, Y., & Aslinar, A. (2015). Pola resistensi kuman penyebab diare terhadap antibiotika. *Majalah Kedokteran Andalas*, 33(1).
- Kadeřábková, N., Mahmood, A. J., & Mavridou, D. A. (2024). Antibiotic susceptibility testing using minimum inhibitory concentration (MIC) assays. *npj Antimicrobials and Resistance*, 2(1), 37.
- Kalista, A. S. P., Kurniady, A. T., Nurhaliza, A. T., Cahyaningrum, A. D., Khoirudin, R., Regiana, S., ... & Adi, O. T. A. (2024). Pemanfaatan Serai (*Cymbopogon citratus*) sebagai Antiseptik Alami dalam Menghambat

- Resistensi Bakteri *Escherichia coli* yang disebabkan oleh Gen fimH di Desa Langenharjo. *Jurnal Pengabdian dan Pemberdayaan Kesehatan*, 1(3), 221-233.
- Katrin, D., Idiawati, N., & Sitorus, B. (2015). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun malek (*Litsea gracie* Vidal) terhadap bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1).
- Kaur, P., & Dudeja, P. K. (2023). Pathophysiology of enteropathogenic *Escherichia coli*-induced diarrhea. *Newborn (Clarksville, Md.)*, 2(1), 102.
- Kementerian Agama Republik Indonesia. 2019. *Tafsir QS. Asy-Syu'ara Ayat 7*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an. <https://quran.kemenag.go.id/>
- Kementerian Agama Republik Indonesia. 2019. *Tafsir QS. Al-A'la Ayat 3*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an. <https://quran.kemenag.go.id/>
- Kementerian Agama Republik Indonesia. 2019. *Tafsir QS. An-Nahl Ayat 69*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an. <https://quran.kemenag.go.id/>
- Khumairoh, L., Susilo, J., & Laila Vifta, R. (2020). *Perbedaan pelarut etanol 96% dan etil asetat pada uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga telang (Clitoria ternatea L) terhadap Propionibacterium acnes* (Doctoral dissertation, Universitas Ngudi Waluyo).
- Kire, M. W., Hinga, I. A. T., Landi, S., & Riwu, Y. R. (2025). Gambaran faktor risiko kejadian diare pada balita di wilayah kerja puskesmas seba kabupaten sabu raijua tahun 2024. *Medika Alkhairaat: Jurnal Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*, 7(02), 1077-1085. <https://doi.org/10.31970/ma.v7i02.315>
- Kreisberg, R. B., Harper, J., Strauman, M. C., Marohn, M., Clements, J. D., & Nataro, J. P. (2011). Induction of increased permeability of polarized enterocyte monolayers by enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 84(3), 451.
- Kurniawan, K., & Syila, S. (2021). Kandungan Bakteri (*Escherichia coli*) Protein Dan Total Asam Laktat Pada Pembuatan Fermentasi Rusip Ikan Teri (*Stolephorus* sp.). *Jambura Fish Processing Journal*, 3(2), 69-77. <https://doi.org/10.37905/jfpj.v3i2.10563>
- Lazuardi, R. N. M. (2010). Mempelajari ekstraksi pigmen antosianin dari kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan berbagai jenis pelarut. *Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung*.
- Le, X. T., Huynh, M. T., Pham, T. N., Than, V. T., Toan, T. Q., Bach, L. G., & Trung, N. Q. (2019). Optimization of total anthocyanin content, stability and antioxidant evaluation of the anthocyanin extract from Vietnamese *Carissa carandas* L. fruits. *Processes*, 7(7), 468. <https://doi.org/10.3390/pr7070468>
- Lin, Y., Li, C., Shi, L., & Wang, L. (2023). Anthocyanins: modified new technologies and challenges. *Foods*, 12(7), 1368. <https://doi.org/10.3390/foods12071368>
- Liu, M., Seidel, V., Katerere, D. R., & Gray, A. I. (2007). Colorimetric broth microdilution method for the antifungal screening of plant extracts against yeasts. *Methods*, 42(4), 325-329. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.02.013>

- Mao, T., Zhai, H., Duan, G., & Yang, H. (2019). Patterns of drug-resistant bacteria in a general hospital, China, 2011–2016. *Polish Journal of Microbiology*, 68(2), 225.
- Markley, J. L., & Wencewicz, T. A. (2018). Tetracycline-inactivating enzymes. *Frontiers in microbiology*, 9, 1058. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01058>
- Mauludifia F, Astrinia SD, Meiranti KA et al. (2019). Production of natural colorant powder from *Clitoria ternatea* L. using tray dryer which is dehumidified by zeolite. *J Phys Conf Ser* 1295:012018
- Mayanti, L., Rahayu, Y. P., Lubis, M. S., & Yuniarti, R. (2023). Analisis Cemaran Bakteri Coliform Pada Saus Jajanan Di Sekitar Sekolah Menengah Kejuruan Di Kota Medan. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 1282-1289.
- McGuinness, W. A., Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2017). Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Yale journal of biology and medicine*, 90(2), 269.
- Ming, Z., Han, L., Bao, M., Zhu, H., Qiang, S., Xue, S., & Liu, W. (2021). Living bacterial hydrogels for accelerated infected wound healing. *Advanced Science*, 8(24), 2102545.
- Munira, M., & Nasir, M. (2023). Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dari geothermal Ie Seum Aceh Besar terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal SAGO Gizi Dan Kesehatan*, 4(2), 179-185. <http://dx.doi.org/10.30867/gikes.v4i2.1107>
- Muslim, I. A. H. 2006. *Shahih Muslim*. Riyadh: Darussalam.
- Najiya, U. L. (2022). Uji antibakteri ekstrak akar jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode dilusi. *Jurnal Kesehatan Ilmiah Polanka*, 5(1), 12–18.
- Nurjanah, G. S., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2020). Kajian pustaka: resistensi *Escherichia coli* terhadap berbagai macam antibiotik pada hewan dan manusia. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(6), 970-983.
- Palupi, M. F., Maheshwari, H., Darusman, H. S., Sudarnika, E., & Wibawan, I. W. T. (2018). Resistansi *Escherichia coli* terhadap Kolistin dan Deteksi Gen Mobilized Colistin Resistance-1 pada Ayam Pedaging Akibat Pemberian Kolistin Sulfat. *Jurnal Veteriner Juni*, 19(2), 196-207.
- Pertiwi, R., Nasution, H. M., Yuniarti, R., & Rani, Z. (2026). Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun kedondong hutan (*spondias pinnata* (lf) kurz.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 5(1), 25-32.
- PH, D. P., Nur, A., Rajih, M. F., & Fiskia, E. (2025). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Telang Biru (*Clitoria ternatea* L.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Farmasi*, 91-98. <https://doi.org/10.29313/jrf.v5i2.8530>
- Pisacha, I. M., Safutri, W., & Rahayu, K. W. (2023). Review artikel: Aktivitas antibakteri ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal Pharmacy Aisyah*, 2(2), 68-74.
- Prasetya, I. A. W., Aziz, A., Ekawati, E. R., Pradana, M. S., Al Batati, N., & Pratiwi, E. R. (2023). Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle Terhadap *Vibrio* sp. *Jurnal Sainhealth*, 7(1), 9-14.

- Pratap, G. M., Manoj, K. M., Sai, S. A., Sujatha, B., & Sreedevi, E. (2012). Evaluation of three medicinal plants for anti-microbial activity. *Ayu*, 33(3), 423. <https://doi.org/10.4103/0974-8520.108859>
- Puspitasari, A. D., & Sari, W. N. (2023). Perbandingan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Umbi Wortel (*Daucus carota* L.) pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 28-35.
- Rahmah, A. F., Arma, U., Lestari, C., Edrizal, E., & Zia, H. K. (2024). Uji zona hambat ekstrak metanol teripang putih (*holothuria scabra*) mentawai terhadap *Streptococcus sanguinis* pada Stomatitis Aftosa Rekuren secara in vitro: studi eksperimental. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 8(1), 71-79. <https://doi.org/10.24198/pjdrs.v8i1.52551>
- Riyanto, E. F., & Suhartati, R. (2019). Daya hambat ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L) terhadap bakteri perusak pangan. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 19(2), 218-225.
- Safitri, E. A., & Fatmawati, A. (2021). Inhibition Activity Of Ethanolic Extract Of *Ulva lactuca* Against *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(1), 43-48.
- Sari, D. I., Wahjuni, R. S., Praja, R. N., Utomo, B., & Wibawati, P. A. (2021). Lime Peel Liquid (*Citrus aurantifolia*, Swingle) Inhibit *Escherichia Coli* In Vitro. *Jurnal Medik Veteriner*, 4(1), 63-71.
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS biology*, 14(8), e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Shihab, M. Q. (2002). Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an (Message, Impression, and The Unity of the Qur'an). *Tafsir Al-Misbah. Lentera Hati*. VOL. 15.
- Suarna, I. W., & Wijaya, I. M. S. (2021). Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.: Fabaceae) and its morphological variations in Bali. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 6(2), 63013. <https://doi.org/0.22146/jtbb.63013>
- Surkesnas. (2011). *Survey Kesehatan Nasional*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Syafridah, A. (2022). Hubungan Tingkat Pengetahuan Ibu Dengan Perilaku Penggunaan Antibiotik Pada Balita Usia 0-2 Tahun Di Puskesmas Dewantara Kabupaten Aceh Utara. *AVERROUS: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh*, 8 (2), 51–58.
- Trisno, K., Tono, K. P., & Suarjana, I. G. K. (2019). Isolasi dan indentifikasi bakteri *Escherichia coli* dari udara pada rumah potong unggas swasta di Kota Denpasar. *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(5), 685-694.
- van Teeseling, M. C., de Pedro, M. A., & Cava, F. (2017). Determinants of bacterial morphology: from fundamentals to possibilities for antimicrobial targeting. *Frontiers in microbiology*, 8, 278838. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01264>
- Vázquez-Laslop N, Mankin AS. (2018). How macrolide antibiotics work. *Trends Biochem Sci.*,43(9):668–84.
- Wahyuningsih, E. S., Gunarti, N. S., Fikayuniar, L., & Fajriyani, A. (2023). Uji Organoleptik dan Mikrobiologi Air Minum Isi Ulang Di Sekitar UBP

- Karawang. *Media Bina Ilmiah*, 17(9), 2199-2206.  
<https://doi.org/10.33578/mbi.v17i9.365>
- Waisnawi, P. A. G., Puspawati, G. A. K. D., & Wrasati, L. P. (2022). Pengaruh penambahan jeruk nipis terhadap ph, total antosianin dan aktivitas antioksidan pada minuman bunga telang. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno*, 7(1), 89.
- Wong, M. L. (2017). *Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (Citrus aurantifolia Swingle) terhadap Streptococcus pyogenes* (Doctoral dissertation, Widya Mandala Catholic University Surabaya).
- Yernisa, E. & K. Syamsu. (2013). Aplikasi Pewarna Bubuk Alami dari Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) pada Pewarnaan Sabun Transparan Application Of Natural Dye Powder From Seeds Of *Areca catechu* L. in Transparent Soap. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 23(3): 190-198.
- Zahara, M. (2022). Ulasan singkat: deskripsi kembang telang (*Clitoria ternatea* L.) dan manfaatnya. *Jurnal Jeumpa*, 9(2), 719-728.  
<https://doi.org/10.33059/jj.v9i2.6509>
- Zhivich, A. (2020). Hypothesis: daptomycin permeabilizes membranes by forming self-assembled nanotubes. *Microbiology Independent Research journal*, 7(1), 59-71.
- Zulichah, M. S., Sahara, R., & Himawati, L. (2024). Asuhan kebidanan balita sakit diare akut pada an. K umur 4 tahun 6 bulan dengan fokus intervensi pemberian madu murni di Puskesmas Toroh I. *The Shine Cahaya Dunia Kebidanan*, 8(2). 33-38. <https://doi.org/10.35720/tscbid.v8i2.467>

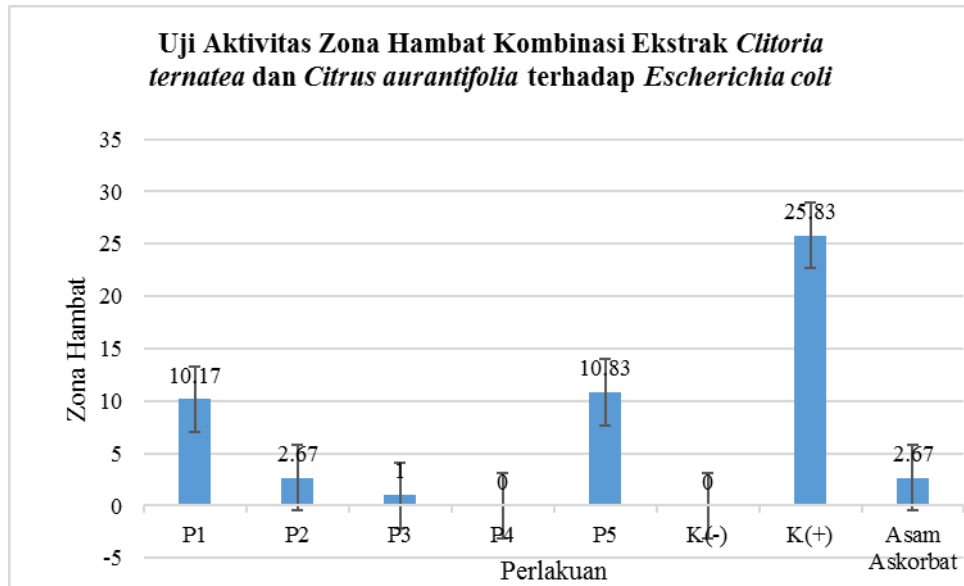
# Lampiran 1. Hasil Olah Data

## Perhitungan Zona Hambat

| Perlakuan              | repetisi | diameter zona hambat | jumlah | rata-rata    | SD          | D ± SD              | Ket         |
|------------------------|----------|----------------------|--------|--------------|-------------|---------------------|-------------|
| <b>p1</b>              | 1        | 11.5                 | 30.5   | <b>10.17</b> | <b>1.89</b> | <b>10.17 ± 1.89</b> | kuat        |
| 25:75%                 | 2        | 8                    |        |              |             |                     |             |
|                        | 3        | 11                   |        |              |             |                     |             |
| <b>p2</b>              | 1        | 5                    | 8      | <b>2.67</b>  | <b>2.08</b> | <b>2.67 ± 2.08</b>  | lemah       |
| 50:50%                 | 2        | 2                    |        |              |             |                     |             |
|                        | 3        | 1                    |        |              |             |                     |             |
| <b>p3</b>              | 1        | 1                    | 3      | <b>1.00</b>  | <b>1.00</b> | <b>1.00 ± 1.00</b>  | lemah       |
| 75:25%                 | 2        | 0                    |        |              |             |                     |             |
|                        | 3        | 2                    |        |              |             |                     |             |
| <b>p4</b>              | 1        | 0                    | 0      | <b>0.00</b>  | <b>0.00</b> | <b>0</b>            |             |
| 100%T                  | 2        | 0                    |        |              |             |                     |             |
|                        | 3        | 0                    |        |              |             |                     |             |
| <b>p5</b>              | 1        | 11.5                 | 32.5   | <b>10.83</b> | <b>2.08</b> | <b>10.83 ± 2.08</b> | kuat        |
| 100%J                  | 2        | 8.5                  |        |              |             |                     |             |
|                        | 3        | 12.5                 |        |              |             |                     |             |
| <b>k(-)</b>            | 1        | 0                    | 0      | <b>0.00</b>  | <b>0.00</b> | <b>0</b>            | K-          |
| DMSO 1%                | 2        | 0                    |        |              |             |                     |             |
|                        | 3        | 0                    |        |              |             |                     |             |
| <b>K(+)</b>            | 1        | 26                   | 77.5   | <b>25.83</b> | <b>0.29</b> | <b>25.83 ± 0.29</b> | sangat kuat |
| Ciprofoxacin           | 2        | 25.5                 |        |              |             |                     |             |
|                        | 3        | 26                   |        |              |             |                     |             |
| <b>K asam askorbat</b> | 1        | 3                    | 8      | <b>2.67</b>  | <b>0.58</b> | <b>2.67 ± 0.58</b>  | lemah       |
|                        | 2        | 2                    |        |              |             |                     |             |
|                        | 3        | 3                    |        |              |             |                     |             |

### Grafik Hasil Perhitungan Zona Hambat

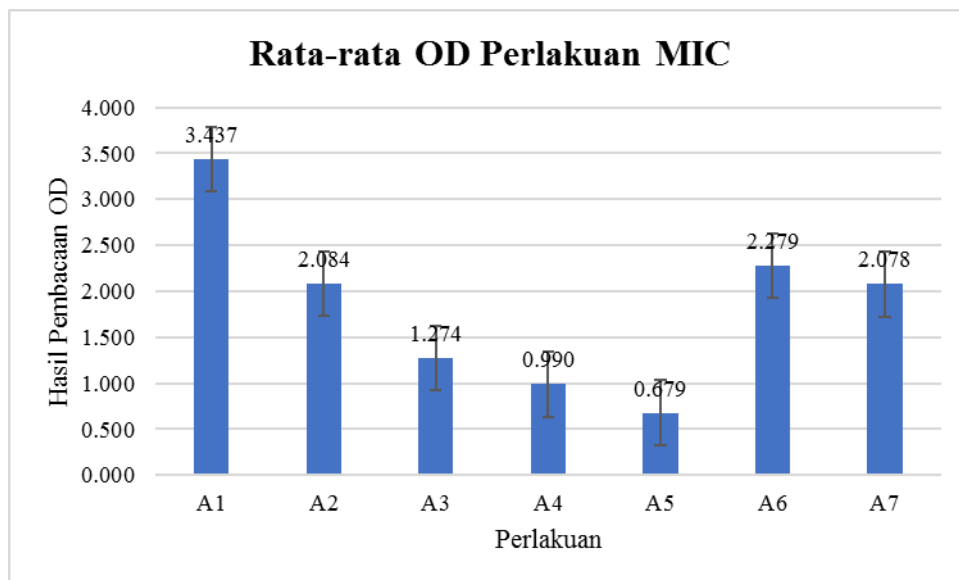
#### Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* terhadap *Escherichia coli*



### Hasil Pengukuran Absorbansi Uji MIC menggunakan ELISA Reader

[illegible]

| Perlakuan | rata-rata OD | SD    |
|-----------|--------------|-------|
| A1        | 3.437        | 0.267 |
| A2        | 2.084        | 1.050 |
| A3        | 1.274        | 0.154 |
| A4        | 0.990        | 0.265 |
| A5        | 0.679        | 0.127 |
| A6        | 2.279        | 0.048 |
| A7        | 2.078        | 0.044 |
| K1        | 0.490        | 0.196 |
| K2        | 3.893        | 0.186 |
| K3        | 2.066        | 0.053 |
| K4        | 0.777        | 0.434 |



| HASIL PENGUKURAN OPTICAL DENSITY (OD) DAN PERSENTASE INHIBISI                                                                                                                                                                 |                 |              |                  |                 |                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------|------------------|-----------------|--------------------------------------|
| <i>Uji MIC Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (Clitoria ternatea L.) dan Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia)</i>                                                                                                                    |                 |              |                  |                 |                                      |
| Kelompok                                                                                                                                                                                                                      | Konsentrasi (%) | OD Rata-rata | OD Terkoreksi*   | % Inhibisi**    | Keterangan                           |
| <b>Kelompok Perlakuan</b>                                                                                                                                                                                                     |                 |              |                  |                 |                                      |
| A1                                                                                                                                                                                                                            | 25.0000         | 3.437        | 2.947            | -87.0%          | Tidak terhambat                      |
| A2                                                                                                                                                                                                                            | 12.5000         | 2.084        | 1.594            | -1.1%           | Tidak terhambat                      |
| A3                                                                                                                                                                                                                            | 6.2500          | 1.274        | 0.784            | 50.3%           | Terhambat                            |
| A4                                                                                                                                                                                                                            | 3.1250          | 0.990        | 0.500            | 68.3%           | Terhambat                            |
| A5                                                                                                                                                                                                                            | 1.5625          | 0.679        | 0.189            | 88.0%           | Terhambat ★                          |
| A6                                                                                                                                                                                                                            | 0.7800          | 2.279        | 1.789            | -13.5%          | Tidak terhambat                      |
| A7                                                                                                                                                                                                                            | 0.3900          | 2.078        | 1.588            | -0.8%           | Tidak terhambat                      |
| <b>Kelompok Kontrol</b>                                                                                                                                                                                                       |                 |              |                  |                 |                                      |
| K1                                                                                                                                                                                                                            | —               | 0.490        | 0,000 (baseline) | —               | Kontrol media                        |
| K2                                                                                                                                                                                                                            | —               | 3.893        | —                | —               | Kontrol ekstrak + media              |
| K3                                                                                                                                                                                                                            | —               | 2.066        | 1.576            | 0% (acuan 100%) | Kontrol media + bakteri              |
| K4                                                                                                                                                                                                                            | —               | 0.777        | 0.287            | 81.7893401      | Kontrol media + bakteri + antibiotik |
| * OD Terkoreksi = OD Perlakuan – OD K1 (0,490) sebagai koreksi baseline media                                                                                                                                                 |                 |              |                  |                 |                                      |
| ** % Inhibisi = $[(OD\ K3 - OD\ Perlakuan) / (OD\ K3 - OD\ K1)] \times 100$                                                                                                                                                   |                 |              |                  |                 |                                      |
| ★ A5 merupakan konsentrasi dengan potensi hambatan tertinggi (67,1%), namun penetapan MIC definitif memerlukan konfirmasi subkultur karena adanya pola OD tidak monoton dan interferensi pigmen antosianin dari ekstrak bunga |                 |              |                  |                 |                                      |

| RUMUS DAN KETERANGAN PERHITUNGAN |                                                             |                                            |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Parameter                        | Rumus                                                       | Keterangan                                 |
| OD Terkoreksi                    | OD Perlakuan - OD K1                                        | K1 = 0,490 (kontrol media / baseline)      |
| % Inhibisi                       | $[(OD\ K3 - OD\ perlakuan) / (OD\ K3 - OD\ K1)] \times 100$ | K3 = 2,066 (kontrol bakteri = 100% tumbuh) |
| Nilai K1 (baseline)              | 0,490                                                       | Kontrol media tanpa bakteri dan ekstrak    |
| Nilai K2 (warna ekstrak)         | 3,893                                                       | Kontrol ekstrak + media (tanpa bakteri)    |
| Nilai K3 (kontrol bakteri)       | 2,066                                                       | Pertumbuhan bakteri 100% tanpa perlakuan   |
| Nilai K4 (kontrol antibiotik)    | 0,777                                                       | Hambatan positif oleh antibiotik standar   |
| % Inhibisi K4                    | 62,4%                                                       | Referensi hambatan antibiotik standar      |

## Lampiran 2. Analisis Data menggunakan SPSS

### 1. Hasil *Test of Normality*

| Tests of Normality       |                   |                                 |    |      |              |    |       |
|--------------------------|-------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
|                          | Perlakuan         | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |       |
|                          |                   | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig.  |
| Diameter_Zona_Ham<br>bat | 25T:75J%          | .337                            | 3  | .    | .855         | 3  | .253  |
|                          | 50T:50J%          | .292                            | 3  | .    | .923         | 3  | .463  |
|                          | 75T:25J%          | .175                            | 3  | .    | 1.000        | 3  | 1.000 |
|                          | 100%T             | .                               | 3  | .    | .            | 3  | .     |
|                          | 100%J             | .292                            | 3  | .    | .923         | 3  | .463  |
|                          | K(-)              | .                               | 3  | .    | .            | 3  | .     |
|                          | K(+)              | .385                            | 3  | .    | .750         | 3  | .000  |
|                          | K As.<br>Askorbat | .385                            | 3  | .    | .750         | 3  | .000  |

a. Lilliefors Significance Correction

#### Interpretasi data :

Hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa terdapat data dengan  $sig < 0,05$  dan  $sig > 0,05$  sehingga menghasilkan **data yang tidak sepenuhnya normal**.

### 2. Hasil *Test of Homogeneity of Variance*

| Test of Homogeneity of Variances |                                         |           |     |       |      |
|----------------------------------|-----------------------------------------|-----------|-----|-------|------|
|                                  |                                         | Levene    |     |       |      |
|                                  |                                         | Statistic | df1 | df2   | Sig. |
| Diameter_Zona_Hamb<br>at         | Based on Mean                           | 5.022     | 7   | 16    | .004 |
|                                  | Based on Median                         | 1.018     | 7   | 16    | .456 |
|                                  | Based on Median and<br>with adjusted df | 1.018     | 7   | 7.194 | .490 |
|                                  | Based on trimmed<br>mean                | 4.534     | 7   | 16    | .006 |

#### Interpretasi data :

Hasil uji homogenitas *Levene* menunjukkan bahwa data dengan  $sig < 0,05$  yaitu 0,004 yang mengartikan bahwa **data tidak homogen** sehingga dapat diuji lanjut menggunakan *Kruskall-Wallis*.

### 3. Hasil Uji *Kruskall-Wallis*

| Ranks                |                |    |           |
|----------------------|----------------|----|-----------|
|                      | Perlakuan      | N  | Mean Rank |
| Diameter_Zona_Hambat | 25T:75J%       | 3  | 17.83     |
|                      | 50T:50J%       | 3  | 11.50     |
|                      | 75T:25J%       | 3  | 7.83      |
|                      | 100%T          | 3  | 4.00      |
|                      | 100%J          | 3  | 19.17     |
|                      | K(-)           | 3  | 4.00      |
|                      | K(+)           | 3  | 23.00     |
|                      | K As. Askorbat | 3  | 12.67     |
|                      | Total          | 24 |           |

#### Test Statistics<sup>a,b</sup>

| Diameter_Zona<br>Hambat |        |
|-------------------------|--------|
| Kruskal-Wallis H        | 21.629 |
| df                      | 7      |
| Asymp. Sig.             | .003   |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

#### Interpretasi data :

Hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan bahwa  $sig = 0,003$ , dimana  $0,003 < 0,05$  yang menunjukkan adanya **perbedaan nyata pada perlakuan**.

### Lampiran 3. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Penimbangan  
simplisia



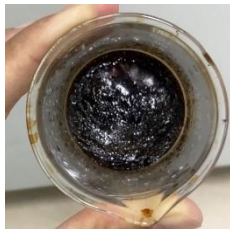
Penimbangan  
sesuai dengan  
kadar yang  
ditentukan



Evaporasi filtrat  
hasil maserasi 1  
x 24 jam



Ekstrak kental bunga  
telang



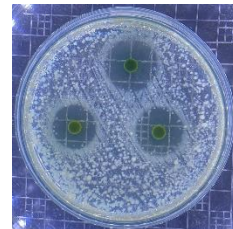
Ekstrak kental  
jeruk nipis



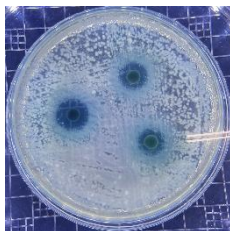
Pembuatan  
konsentrasi uji  
zona hambat



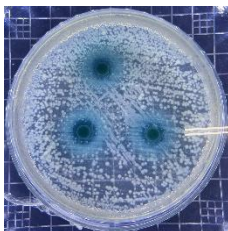
Uji zona hambat  
menggunakan  
kertas cakram



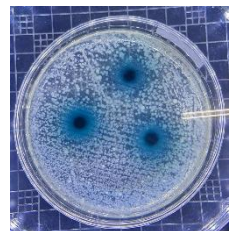
Hasil uji zona hambat  
setelah inkubasi  
 $\pm 20$  jam (P1)



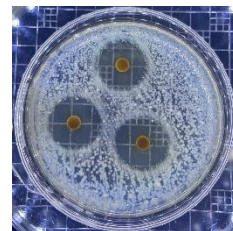
P2



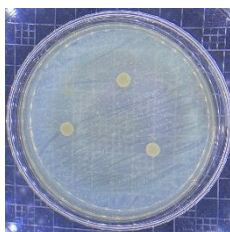
P3



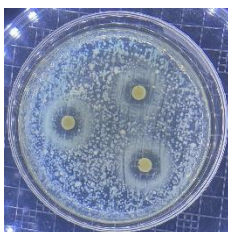
P4



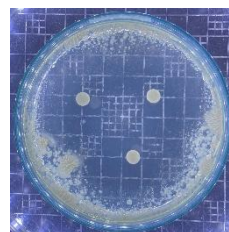
P5



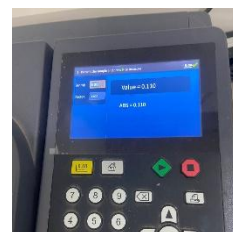
K(-)



Kontrol Asam  
askorbat



K (+)



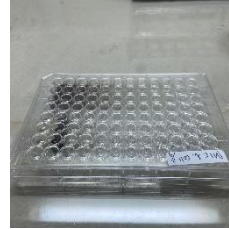
Uji absorbansi hasil  
suspensi bakteri



Pembuatan  
perlakuan uji  
mikrodilusi dan  
suspensi bakteri



Uji MIC



Inkubasi 20-24  
jam, suhu 37°C



Hasil uji MIC



**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** : Ziskino Qurota A'yun  
**NIM** : 220602110053  
**Judul** : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Escherecia coli* secara *in Vitro*.

| No | Tim Check plagiasi                       | Skor Plagiasi | TTD                                                                                 |
|----|------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | Azizatur Rohmah, M.Sc                    | 23%           |  |
| 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 |               |                                                                                     |

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



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



**JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI**

**IDENTITAS MAHASISWA**

NIM : 220602110053  
Nama : ZISKINO QUROTA A'YUN  
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI  
Jurusan : BIOLOGI  
Dosen Pembimbing 1 : FITRIYAH, S.Si., M.Si  
Dosen Pembimbing 2 : MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si  
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria Ternatea*) Biru dan Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* secara *in Vitro*

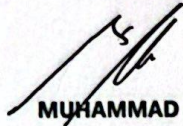
**IDENTITAS BIMBINGAN**

| No | Tanggal Bimbingan | Nama Pembimbing              | Deskripsi Proses Bimbingan           | Tahun Akademik   | Status          |
|----|-------------------|------------------------------|--------------------------------------|------------------|-----------------|
| 1  | 27 Agustus 2025   | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan Kepenulisan Skripsi        | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 2  | 03 September 2025 | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan Variabel Penelitian        | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 3  | 17 September 2025 | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan Judul dan BAB I            | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 4  | 23 September 2025 | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan BAB I                      | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 5  | 29 September 2025 | MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si | Bimbingan Integrasi BAB I            | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 6  | 07 Oktober 2025   | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan BAB I & BAB II             | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 7  | 15 Oktober 2025   | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan BAB I-II                   | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 8  | 23 Oktober 2025   | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan BAB III                    | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 9  | 29 Oktober 2025   | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan Revisi BAB I - BAB III     | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 10 | 05 November 2025  | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan Revisi BAB III             | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 11 | 12 November 2025  | MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si | Bimbingan Integrasi BAB I dan BAB II | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 12 | 12 November 2025  | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan Revisi BAB I-III           | Ganjil 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 13 | 15 Januari 2026   | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | bimbingan metode penelitian          | Genap 2026/2027  | Sudah Dikoreksi |
| 14 | 09 Februari 2026  | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan uji pendahuluan            | Genap 2026/2027  | Sudah Dikoreksi |
| 15 | 10 Maret 2026     | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan Progres penelitian         | Genap 2026/2027  | Sudah Dikoreksi |
| 16 | 15 April 2026     | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Bimbingan progres penelitian         | Genap 2026/2027  | Sudah Dikoreksi |
| 17 | 20 Mei 2026       | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Progresan hasil penelitian           | Genap 2026/2027  | Sudah Dikoreksi |
| 18 | 02 Juni 2026      | MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si | Bimbingan intetgrasi bab 1-4         | Genap 2026/2027  | Sudah Dikoreksi |

|    |              |                              |                            |                 |                 |
|----|--------------|------------------------------|----------------------------|-----------------|-----------------|
| 19 | 03 Juni 2026 | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Revisi Hasil Akhir Skripsi | Genap 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 20 | 04 Juni 2026 | MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si | Revisi Integrasi BAB IV    | Genap 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |
| 21 | 30 Juni 2026 | FITRIYAH, S.Si., M.Si        | Revisi BAB IV              | Genap 2025/2026 | Sudah Dikoreksi |

Telah disetujui  
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

  
MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si



Kajur / Kaprodi,

Malang, \_\_\_\_\_  
Dosen Pembimbing 1



FITRIYAH, S.Si., M.Si