

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK BUNGA
TELANG (*Clitoria ternatea*) DAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)
TERHADAP *Shigella dysenteriae* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**OLEH
RIZKI SRI LESTARI
NIM. 220602110054**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK BUNGA
TELANG (*Clitoria ternatea*) DAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)
TERHADAP *Shigella dysenteriae* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**OLEH
RIZKI SRI LESTARI
NIM. 220602110054**

**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 : Rizki Sri Lestari
NIM : 220602110054
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in Vitro*.

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.
NIP. 19860725 201903 2 013

(.....)

Pembimbing II : Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si.
NIPPPK. 19870522 202321 1 016

(.....)

Tim Penguji : Ir. Liliek Harianie AR, M.P.
NIP. 19620901 199803 2 001

(Ketua) (.....)

Dr. Muhammad Saefi, M.Pd.
NIP. 19920101 202203 1 002

(Anggota) (.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



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

HALAMAN 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 *Shigella dysenteriae* secara *in Vitro*” 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. Seluruh orang tua penulis, baik orang tua biologis, orang tua spiritual, almarhum kakek dan nenek 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. Kepada terapis dan tenaga medis yang telah mendampingi serta menangani penulis dengan penuh kesabaran, ketulusan, dan keikhlasan. Terima kasih telah memberikan penanganan terbaik, serta menemani penulis dalam menemukan makna hidup dan ketenangan di tengah perjalanan menimba ilmu. Kehadiran dan kebaikan kalian menjadi bagian yang sangat berarti dalam perjalanan hidup penulis. Semoga Allah SWT membalas seluruh kebaikan tersebut dengan pahala yang berlipat, kesehatan, keberkahan, serta kebahagiaan dunia dan akhirat.
3. 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.
4. Bapak Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si. selaku dosen pembimbing bidang keagamaan yang saya hormati. Terima kasih karena telah membimbing penulis dengan sangat sabar, ramah, tidak lupa 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.
5. Bapak Didik Wahyudi, M.Si., selaku dosen wali, yang saya kenal sebagai sosok guru spiritual yang mengajarkan nilai-nilai kehidupan berlandaskan

maqāṣid al-syarī'ah serta pentingnya menjunjung tinggi asas kebermanfaatan. Beliau menjadi teladan bagi saya mengenai sosok manusia yang ingin saya upayakan di masa depan. Beliau pula yang telah menjembatani saya untuk belajar, magang, berwirausaha, dan berbagai pengalaman lain yang mengubah cara pandang saya terhadap kehidupan. Semoga di manapun Bapak berada, Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat, kesehatan, dan keberkahan kepada Bapak beserta keluarga.

6. Bapak Dr. Muhammad Saefi, M.Pd, dosen mikrobiologi dan integrasi yang sangat saya hormati. Terima kasih telah mengajarkan saya menjadi manusia yang berlandaskan iman, menjadi manusia yang memiliki teladan, sopan santun, dan integritas. Beliau menyadarkan saya betapa berharganya cara berpikir manusia yang di dalamnya terdapat percampuran antara rasionalitas dan kebijaksanaan hati. Beliau mengingatkan kepada kita semua bahwa manusia punya kekuatan besar jika bertawakkal kepada Allah dan selalu meminta kemudahan kepada-Nya. Terima kasih Bapak, berkat apa yang selalu Bapak sampaikan di kelas, banyak keajaiban-keajaiban dan kemudahan yang saya temui, yang tidak pernah sampai ketika saya pikirkan.
7. Seluruh dosen dan laboran di Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Rekan Ziskino Qurota Ayun dengan NIM 220602110053, yang menemani penulis selama empat tahun, saling bertukar informasi seputar kampus, riset, persoalan sehari-hari, bahkan hal-hal yang menurut penulis tidak penting untuk dibahas, tetapi ternyata menjadi kegiatan yang sangat menyenangkan. Paling penting, beliau orang yang mengajarkan penulis bagaimana cara bersosialisasi dengan lingkungan sekitar, mengajarkan adab, dan memberikan kesempatan penulis untuk berkembang bersama lingkungannya.
9. Rekan Alhubul Austad Ramadan dengan NIM 220605110003, yang menjadi sosok yang penulis kagumi, yang memastikan penulis dalam rasa aman, memberikan perlindungan baik fisik maupun moral, tidak lelah memberikan arahan dan motivasi, serta selalu menemani penulis dalam masa-masa yang cukup sulit. Dibalik kesuksesan penulis menyeimbangkan antara perkuliahan dan pekerjaan, beliau yang berusaha membantu penulis ketika penulis tidak mampu.
10. Terakhir, untuk diri penulis sendiri, Rizki Sri Lestari, yang berhasil menyelesaikan tugas akhir ini dengan penuh syukur. Terima kasih sudah mengusahakan kehidupan dengan sebaik-baiknya, berusaha menyetarakan hidupnya seperti anak-anak seusianya, punya semangat belajar yang tinggi meskipun harus bisa membagi waktu kuliah dan bekerja. Penulis tidak pernah membayangkan akan melewati fase hidup yang bahagia ini, duduk merasakan bangku kuliah, dan menamatkannya.

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.

Malang,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Rizki Sri Lestari', with a horizontal line underneath the first part of the signature.

Rizki Sri Lestari
Nim. 220602110054

MOTTO

*“Barangsiapa bertawakal kepada Allah, niscaya Allah akan mencukupkan
(keperluannya).”*

(QS: At-Thalaq [65]: 3)

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rizki Sri Lestari
NIM : 220602110054
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in Vitro*.

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar 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,

Saya membuat pernyataan,



Sri Lestari

Nim. 220602110054

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan secara resmi, namun dapat diakses oleh umum dengan ketentuan bahwa hak cipta sepenuhnya berada pada penulis. Daftar pustaka diperbolehkan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan dengan izin penulis serta harus mengikuti kaidah ilmiah yang berlaku dalam penyebutan sumber.

..

Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in Vitro*

Rizki Sri Lestari, Fitriyah, Muhammad Asmuni Hasyim

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

ABSTRAK

Diare masih menjadi penyakit endemis yang banyak disebabkan oleh infeksi mikroorganisme, salah satunya *Shigella dysenteriae*, bakteri penyebab diare yang sangat virulen dan telah menunjukkan resistensi terhadap berbagai antibiotik. Sebagai alternatif pengobatan, kombinasi bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) berpotensi digunakan karena kandungan senyawa bioaktifnya yang bersifat antibakteri dan diduga bekerja sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan menentukan perbandingan terbaik kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis serta mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *S. dysenteriae*. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan, yaitu P1 (25%:75%), P2 (50%:50%), P3 (75%:25%), P4 (*C. ternatea*), dan P5 (*C. aurantiifolia*) pada konsentrasi 25%. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram, sedangkan KHM ditentukan dengan metode mikrodilusi pada perlakuan terbaik. Data zona hambat dianalisis menggunakan uji Kruskal–Wallis dan data KHM dianalisis secara deskriptif berdasarkan pengamatan visual serta absorbansi *microplate reader*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa P1 menghasilkan aktivitas antibakteri terbaik dengan rata-rata diameter zona hambat 7,5 mm (kategori sedang), sedangkan P2, P3, P4, dan P5 berturut-turut menghasilkan zona hambat 2,8 mm, 3,0 mm, 3,8 mm, dan 4,8 mm (kategori lemah). Nilai KHM kombinasi ekstrak terhadap *S. dysenteriae* diperoleh pada konsentrasi 3,125%. Kombinasi P1 berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri alami karena menghasilkan nilai KHM yang lebih baik dibandingkan sebagian besar ekstrak tunggal yang telah dilaporkan.

Kata kunci: *Citrus aurantiifolia*, *Clitoria ternatea*, difusi cakram, KHM, *Shigella dysenteriae*

Antibacterial Activity Test of the Combination of Butterfly Pea Flower (*Clitoria ternatea*) and Lime (*Citrus aurantifolia*) Extract Against *Shigella dysenteriae* in Vitro

Rizki Sri Lestari, Fitriyah, Muhammad Asmuni Hasyim

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

ABSTRACT

Diarrhea remains an endemic disease and a major cause of early childhood mortality, one of which is caused by *Shigella dysenteriae* infection. This bacterium has developed resistance to various antibiotics, highlighting the need for alternative plant-based treatments. Butterfly pea (*Clitoria ternatea*) and lime (*Citrus aurantifolia*) are known to contain bioactive compounds with antibacterial potential and are expected to exhibit enhanced activity when combined. Bioactive compounds from lime may destabilize the bacterial outer membrane, thereby facilitating the penetration of butterfly pea bioactive compounds into the cell and enhancing antibacterial activity. This study aimed to determine the optimal ratio of butterfly pea and lime extracts and to evaluate their Minimum Inhibitory Concentration (MIC) against *S. dysenteriae*. A Completely Randomized Design (CRD) was employed with five treatments: P1 (25%:75%), P2 (50%:50%), P3 (75%:25%), P4 (*C. ternatea*), and P5 (*C. aurantifolia*), all at a concentration of 25%. Antibacterial activity was assessed using the disk diffusion method, while MIC was determined by the microdilution method using the best-performing treatment. Inhibition zone data were analyzed using the Kruskal–Wallis test, whereas MIC data were analyzed descriptively based on visual observations and microplate reader absorbance values. The results showed that P1 exhibited the highest antibacterial activity with an average inhibition zone diameter of 7.5 mm (moderate category), while P2, P3, P4, and P5 produced inhibition zones of 2.8 mm, 3.0 mm, 3.8 mm, and 4.8 mm, respectively (weak category). The MIC of the extract combination against *S. dysenteriae* was 3.125%. The P1 combination has potential to be developed as a natural antibacterial agent due to its lower MIC value compared with most previously reported single extracts.

Keyword: *Citrus aurantifolia*, *Clitoria ternatea*, disc diffusion, MIC, *Shigella dysenteriae*

والليمون (*Clitoria ternatea*) دراسة النشاط المضاد للبكتيريا لمزيج مستخلص زهرة البازلاء الزرقاء في *Shigella dysenteriae* ضد بكتيريا الشيغيلا الزحارية (*Citrus aurantifolia*) الحامض

رزقي سري ليستاري، فترية، محمد أسموني حاشم

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

ملخص البحث

لا يزال الإسهال مرضًا متوطنًا ويُعد أحد الأسباب الرئيسية لوفيات الأطفال في سن مبكرة، ومن أسبابه الإصابة ببكتيريا الشيغيلا الزحارية وقد أظهرت هذه البكتيريا مقاومةً للعديد من المضادات الحيوية، مما يستدعي البحث عن بدائل علاجية قائمة. (*Shigella dysenteriae*) يحتويان على (*Citrus aurantiifolia*) والليمون الحامض (*Clitoria ternatea*) على النباتات. ومن المعروف أن زهرة البازلاء الزرقاء مركبات حيوية فعالة ذات خصائص مضادة للبكتيريا، ويُتوقع أن تكون فعالتهما أكبر عند دمجهما معًا. إذ يمكن للمركبات الحيوية الموجودة في الليمون الحامض أن تُضعف الغشاء الخارجي للبكتيريا، مما يسهل نفاذ المركبات الحيوية الموجودة في زهرة البازلاء الزرقاء إلى داخل الخلية ويعزز النشاط المضاد للبكتيريا. هدفت هذه الدراسة إلى تحديد أفضل نسبة لدمج مستخلصي زهرة البازلاء الزرقاء والليمون الحامض، وقياس التركيز المثبط P2 و P1 (25%:75%) ضد بكتيريا الشيغيلا الزحارية. استُخدم تصميم عشوائي كامل بخمس معاملات هي (MIC) الأدنى جميعها بتركيز 25%. تم تقييم النشاط، (*C. aurantiifolia*) P5 و (*C. ternatea*) P4 و P3 (75%:25%) و P2 (50%:50%) المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة انتشار الأقراص، بينما حُدد التركيز المثبط الأدنى بطريقة التخفيف الدقيق للمعاملة الأفضل أداءً. أظهرت النتائج P2 و P3 حققت أعلى نشاط مضاد للبكتيريا بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغ 7.5 مم (فئة متوسطة)، في حين حققت المعاملات P1 أن المعاملة مناطق تثبيط بلغت 2.8 مم و 3.0 مم و 3.8 مم و 4.8 مم على التوالي (فئة ضعيفة). كما بلغ التركيز المثبط الأدنى لمزيج P5 و P4 و P3 يمتلك إمكانات واعدة للتطوير كعامل طبيعي مضاد P1 المستخلصات ضد بكتيريا الشيغيلا الزحارية 3.125%. وتُظهر نتائج الدراسة أن مزيج. مقارنةً بمعظم المستخلصات المفردة التي أُبلغ عنها سابقًا MIC للبكتيريا نظرًا لانخفاض قيمة

الكلمات الرئيسية: *Citrus aurantiifolia*, *Clitoria ternatea*, انتشار الأقراص, التركيز المثبط الأدنى (*Shigella*), (MIC), *dysenteriae*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmaanirrohiim,

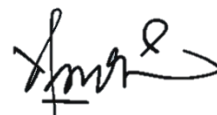
Alhamdulillah wa Syukrulillah puji syukurs enantiasa terpanjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rohmat dan hidayah-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in Vitro*”. Penulis menyadari bahwa dalam pelaksanaan penelitian dan proses pembuatan tugas akhir ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ilfi Nur Diana, M.Si. CHARM, CRMP 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. 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 1 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. Keluarga tercinta yang telah memberikan Doa, dukungan serta motivasi kepada penulis.
8. Teman-teman seperjuangan Biologi dan teman-teman seperjuangan di Laboratorium.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi diri penulis sendiri maupun para pembacanya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, .. Juni 2026



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
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.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan	7
1.4 Manfaat.....	8
1.5 Batasan Masalah	8
1.6 Hipotesis	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 <i>Shigella dysenteriae</i>	10
2.1.1 Morfologi <i>Shigella dysenteriae</i>	12
2.1.2 Pertumbuhan <i>Shigella dysenteriae</i>	14
2.2 Bahan Alami yang diuji.....	17
2.2.1 Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i>).....	17
Bunga telang.....	17
2.2.2 Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	20
2.2.3 Potensi Sinergis Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i>) dan Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	24
2.2.4 Penetapan Konsentrasi Ekstrak	25
2.3 Uji Antibakteri.....	27
2.3.1 Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram	27
2.3.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	30

2.4	Metode Ekstraksi	33
BAB III METODE PENELITIAN35		
3.1	Rancangan Penelitian.....	35
3.2	Waktu dan Tempat.....	35
3.3	Variabel Penelitian.....	36
3.4	Alat dan Bahan.....	36
3.4.1	Alat	36
3.4.2	Bahan	36
3.5	Prosedur Penelitian.....	36
3.5.1	Ekstraksi Metabolit Sekunder Bunga Telang	37
3.5.2	Ekstraksi Metabolit Sekunder Jeruk Nipis	37
3.5.3	Persiapan Media Uji	38
3.5.4	Kultur Bakteri.....	39
3.5.5	Inokulasi <i>Shigella dysenteriae</i>	39
3.5.6	Pembuatan Suspensi Bakteri	40
3.5.7	Pembuatan Larutan Stok Ekstrak	40
3.5.8	Uji Aktivitas Antibakteri	41
3.5.9	Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	42
3.6	Analisis Data.....	44
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....45		
4.1	Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i>) dan Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> dengan Metode Cakram	45
4.2	Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	56
4.2.1	Hasil Uji Kualitatif dengan Pengamatan Visual.....	59
4.2.2	Hasil Uji Kuantitatif menggunakan <i>Microplate Reader</i>	62
BAB V PENUTUP67		
5.1	Kesimpulan.....	67
5.2	Saran	68
DAFTAR PUSTAKA69		
LAMPIRAN79		
	Lampiran 1. Hasil uji antibakteri.....	79
	Lampiran 2. Hasil konsentrasi hambat minimum	80

Lampiran 3. hasil statistik menggunakan SPSS 2.6.....	81
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	82

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi zona hambat	15
Tabel 4.2	Diameter zona hambat kombinasi ekstrak bunga telang (<i>Clitoria ternatea</i>) dan jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) terhadap <i>Shigella dysenteriae</i>	71
Tabel 4.2	Hasil Uji Kualitatif dengan Pengamatan visual	76
Tabel 4.3	Nilai <i>Optical Density</i> (OD).....	90

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kultur <i>Shigella dysenteriae</i>	12
Gambar 2.2	<i>Shigella dysenteriae</i> di bawah mikroskop	12
Gambar 2.2.1	Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i>)	17
Gambar 2.2.3	<i>Citrus aurantifolia</i>	19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil uji antibakteri	109
Lampiran 2. Hasil uji konsentrasi hambat minimum	110
Lampiran 3. Hasil statistik menggunakan SPSS 2.6	111
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	112

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	<i>Adenosine Triphosphate</i>
μm	Mikrometer
EMBA	<i>Eosin Methylene Blue Agar</i>
ETEC	<i>Entero-Toksigenik E. coli</i>
EIEC	<i>Entero-Invasive E. coli</i>
EPEC	<i>Entero-Patogenik E. coli</i>
EHEC	<i>Entero-Hemoragik E. coli</i>
EAEC	<i>Entero-Agregatif 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 ²⁺	Ion Kalsium
Mg ²⁺	Ion Magnesium
tRNA	Transfer Asam Ribonukleat
mRNA	Messenger Asam Ribonukleat
mm	Milimeter
°C	Derajat Celcius
%	Persen
RAL	Rancangan Acak Lengkap
K(+)	Kontrol Positif
K(-)	Kontrol Negatif
P1	Perlakuan 1
P2	Perlakuan 2
P3	Perlakuan 3
P4	Perlakuan 4
LAF	<i>Laminar Air Flow</i>
NA	<i>Nutrient Agarose</i>
HUS	<i>Hemolitik Uremik Syndrom</i>

NaCl
pH
μl
°C

Natrium chloride
Power of Hydrogen
Mikroliter
Derajat Celcius

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diare adalah penyakit endemis yang sangat mudah ditularkan dan setiap tahunnya menyumbang kematian khususnya pada anak usia dini dan pasca neonatal (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2025). Penyakit ini dapat menyerang semua usia dan penularannya sangat cepat. Seseorang dikatakan terkena diare jika intensitas buang air besar lebih dari 3 kali dalam sehari dan disertai feses yang cair (Pratiwi & Haqi, 2019., Sartika dkk, 2020). Penularan penyakit diare umumnya terjadi melalui jalur fekal-oral, yang mencakup kontaminasi makanan dan minuman akibat lalat yang hinggap, perpindahan bakteri dari lingkungan yang tercemar, serta keterbatasan akses terhadap air bersih (Sari & Asri, 2022). Selain itu, penularan juga dapat terjadi ketika hewan secara tidak sengaja terpapar limbah yang berasal dari manusia yang terinfeksi, sehingga memperluas potensi penyebaran patogen di lingkungan sekitar (Keith dkk, 2019). Kebersihan lingkungan menjadi faktor utama dalam munculnya kasus diare, mengingat penyakit ini disebabkan oleh berbagai mikroorganisme patogen yang erat kaitannya dengan kebersihan. Salah satu kelompok bakteri enterik yang sering ditemukan di lingkungan dengan sanitasi buruk adalah genus *Shigella* (Hmar dkk, 2024).

Shigella dysenteriae adalah salah satu dari genus *Shigella* dan menjadi spesies bakteri patogen dari genus tersebut yang paling virulen. Bakteri ini menghasilkan toksin shiga yang dapat memecah eritrosit dan merusak pembuluh darah kapiler terutama pada ginjal, sehingga infeksi bakteri ini dapat menyebabkan diare berdarah dan bernanah, muntah, demam, kram perut, dan komplikasi serius seperti Hemolitik Uremik Sindrom (HUS) (Amor dkk, 2024., Khairunnisa dkk,

2024). Bakteri ini dapat bersimbiosis dengan bakteri enterik lainnya, membentuk biofilm, hanya dengan 10-100 sel bakteri dalam pencernaan manusia, bakteri ini dapat menginveksi saluran pencernaan. *Shigella dysenteriae* memiliki plasmid invasi (ipa genes seperti IpaB dan IpaC) dan sistem sekresi tipe III (T3SS) yang memungkinkan penetrasi ke sel epitel usus (Hmar dkk, 2024). Bakteri ini termasuk bakteri Gram-negatif memiliki membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS), dengan lipid A yang hidrofobik. Kerusakan pada struktur lipid A dapat meningkatkan permeabilitas membran dan menyebabkan gangguan integritas sel bakteri (Yan dkk. 2024).

Penanganan infeksi *Shigella dysenteriae* dapat dilakukan dengan mengkonsumsi antibiotik yang telah dikomersilkan untuk menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. Antibiotik yang dapat digunakan antara lain yakni ciprofloxacin, pivmecillinam, dan ceftriaxone. Menurut Williams & Berkley, (2018), antibiotik tersebut berhasil mengeliminasi *Shigella* dalam 96% kasus. Penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat mengakibatkan hal-hal yang tidak diinginkan seperti resistensi antibiotik dan saat ini diketahui bahwa *Shigella dysenteriae* telah memiliki resistensi terhadap beberapa antibiotik diantaranya yakni ampicilin, tetracycline, cefixime, penicillin, vancomycin, aztreonam, ertapenem, meropenem ciprofloxacin, imipenem dan floroquinon (Sjahriani dan Pattiyah 2019., Cao, 2021., Raihan & Hossain, 2022).

Pengaruh pemberian antibiotik hanya berfokus pada penanganan bakteri tanpa menangani masalah lainnya seperti dampak yang ditimbulkan bakteri tersebut seperti inflamasi dan stres oksidatif pada sel. Masalah tersebut dapat diatasi dengan mengkonsumsi senyawa-senyawa antioksidan, antiinflamasi, dan imunomodulator

untuk membantu mengatasi efek patologis akibat infeksi, senyawa-senyawa tersebut dapat diperoleh dari tumbuhan herbal (Parham dkk., 2020., Hahn, 2020).

Allah berfirman dalam surat An-Nahl ayat 69 yang berbunyi:

ثُمَّ كُلِّي مِنْ كُلِّ الشَّجَرِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلًّا يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ
أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (69)

Artinya: “Kemudian makanlah (wahai lebah) dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). Dari perut lebah itu ke luar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benarbenar terdapat tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang-orang yang memikirkan.” (QS: An-Nahl [16]: 69)

Salah satu keistimewaan madu yang disebutkan dalam QS. An-Nahl adalah kandungan penyembuh yang terdapat di dalamnya. Menurut Ibnu Katsir, (2018) dalam frasa فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ (di dalamnya terdapat obat bagi manusia), berarti bahwa madu memiliki khasiat penyembuhan terhadap berbagai penyakit yang menyerang manusia. Menurut M. Quraish Shihab dalam *Tafsir Al-Misbah*, frasa فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلًّا (tempuhlah jalan-jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan bagimu) menunjukkan bahwa Allah telah memberikan naluri, petunjuk, dan kemudahan kepada lebah untuk menempuh jalan-jalan yang telah ditetapkan-Nya. Lebah mampu menjalankan seluruh proses kehidupannya secara teratur, mulai dari mencari nektar hingga menghasilkan madu, sebagai bagian dari sistem alam yang diciptakan Allah dengan penuh ketelitian. Penjelasan tersebut mengandung isyarat bahwa setiap makhluk telah dibekali potensi dan mekanisme tertentu sesuai

ketetapan Allah, sehingga manusia didorong untuk mengamati, memahami, dan meneliti fenomena alam sebagai bukti kebesaran-Nya (Shihab, 2002).

Ayat di atas menyadarkan kita sebagai manusia *ulul albab* yang sudah seharusnya memikirkan solusi pada permasalahan yang terjadi, termasuk pengobatan dari resistensi antibiotik yang terjadi pada *Shigella dysenteriae*. Pengobatan tradisional sudah digunakan sejak jutaan tahun yang lalu dan saintifikasinya harus terus dilakukan hingga saat ini. Salah satu alternatif pengobatan yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan potensi antibiotik dari senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, fenolik, dan terpenoid (Christalina, dkk.2020).

Di Indonesia, banyak tumbuhan yang mengandung banyak senyawa bioaktif dan berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, sekaligus imunomodulator. Salah satu tumbuhan yang memiliki senyawa bioaktif yang kaya akan manfaat dan mudah didapatkan yaitu bunga telang (*Clitoria ternatea*) (Purba, 2020) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) (Novriyanti dkk, 2023). Kedua tanaman ini merupakan bahan dapur yang sering digunakan sebagai minuman tradisional masyarakat Indonesia. Tanaman tersebut juga telah tersebar luas di seluruh Indonesia, dan dapat berbunga sepanjang tahun (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2024; Purba, 2020; Novriyanti dkk, 2023).

Bagian utama yang dimanfaatkan dari bunga telang (*Clitoria ternatea*) adalah mahkota bunganya yang mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, fenolik, dan terpenoid. Senyawa-senyawa bioaktif tersebut diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti antibakteri, antioksidan, antidiabetes, dan antiinflamasi, serta berpotensi meningkatkan daya ingat dan

fungsi kognitif (Jeyaraj dkk, 2022; Raza dkk, 2024; Sholihatunnisa dkk, 2024). Flavonoid dan tanin dalam bunga telang diketahui mampu membentuk kompleks dengan protein dinding sel bakteri, menyebabkan presipitasi dan lisis sel (Anggraini dkk., 2023). Selain berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui berbagai mekanisme denaturasi protein serta penghambatan pembentukan biofilm (Riyanto dkk., 2019; Besan dkk., 2023).

Ekstrak bunga telang terbukti memberikan aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen, termasuk bakteri penyebab konjungtivitis, infeksi saluran kemih, infeksi kulit, dan kerusakan gigi. Bakteri patogen seperti *P. aeruginosa*, *E. coli*, dan *S. aureus* berhasil dihambat pertumbuhannya dengan nilai Diameter Daya Hambat (DDH) 8–26 mm. Aktivitas antibakteri yang dimilikinya dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan, di mana ekstrak metanol dengan konsentrasi 200 mg/mL (20%) memberikan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *P. aeruginosa* dengan nilai DDH 26 mm yang tergolong dalam kategori penghambatan kuat (Febrianti dkk., 2022).

Selain bunga telang (*Clitoria ternatea*), Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung banyak senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri seperti minyak atsiri (limonene, citral, linalool), asam sitrat, flavonoid (hesperidin, naringenin, eriocitrin, quercetin), tanin, dan saponin. Kandungan minyak atsiri di dalamnya Bersifat hidrofobik sehingga dapat menembus lapisan lipid membran luar dengan mengganggu interaksi LPS dengan ion divalen (Mg^{2+} dan Ca^{2+}) yang menjaga stabilitas membran (Burel dkk, 2021). Terbukanya membran luar inilah yang nantinya memungkinkan senyawa bioaktif dari bunga telang memperoleh akses yang jauh lebih baik untuk menembus sel bakteri dan bekerja pada target

intraselulernya. Penelitian yang dilakukan oleh Imam & Susan, (2024) membuktikan bahwa bakteri gram positif menghasilkan zona *S. aureus* menunjukkan tingkat kerentanan yang lebih tinggi, sedangkan *E. coli* menghasilkan zona hambat yang lebih rendah secara berturut-turut 22 mm dan 20 mm pada konsentrasi 100%. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) diperoleh yakni *S. aureus* dengan 1,56% sedangkan terhadap *E. coli* 3,12%. Dengan demikian, kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis berpotensi menghasilkan efek sinergis, di mana senyawa bioaktif dari jeruk nipis dapat meningkatkan permeabilitas membran luar bakteri sehingga mempermudah penetrasi senyawa antibakteri dari bunga telang, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengevaluasi efek sinergis maupun individual dari kedua tanaman tersebut.

Penelitian yang dilakukan oleh Febrianti dkk. (2022) melaporkan bahwa ekstrak metanol bunga telang pada konsentrasi 20% (200 mg/mL) mampu menghasilkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter daya hambat mencapai 26 mm. Sementara itu, Umar dan Susan (2024) menunjukkan bahwa ekstrak kasar buah jeruk nipis pada pengenceran 1/4 (25%) masih mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan zona hambat sebesar 14 mm. Mengingat *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* sama-sama merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki struktur dinding sel dengan lapisan lipopolisakarida (LPS), maka konsentrasi 25% dipilih sebagai konsentrasi pada setiap perlakuan pada penelitian ini. Konsentrasi tersebut diharapkan mampu menyediakan jumlah senyawa bioaktif yang memadai untuk menghasilkan aktivitas antibakteri sekaligus memungkinkan terjadinya efek sinergis antara ekstrak bunga telang dan jeruk nipis terhadap *Shigella dysenteriae*.

Berdasarkan uraian di atas, kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berpotensi menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih optimal terhadap *Shigella dysenteriae* melalui efek sinergis kandungan bioaktif keduanya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*, sekaligus mengeksplorasi ada tidaknya efek sinergis antara kedua bahan tersebut melalui penentuan konsentrasi hambat minimal (KHM), sehingga kombinasi ini diharapkan dapat menjadi alternatif antibakteri alami yang efektif terhadap *Shigella dysenteriae*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Berapakah perbandingan terbaik kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) yang menunjukkan potensi aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*?
2. Berapakah konsentrasi minimum dari kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*?

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. Menentukan perbandingan terbaik kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) yang menunjukkan potensi aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*?
2. Mengukur konsentrasi minimum dari kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*?

1.4 Manfaat

Penelitian ini dapat mengeksplorasi alternatif pengobatan dengan kombinasi bahan alam terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dengan memanfaatkan potensi sinergis bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

1.5 Batasan Masalah

1. Hanya menguji untuk bakteri enterik patogen *Shigella dysenteriae*, sehingga hasilnya tidak dapat digeneralisasi untuk bakteri lain.
2. Penelitian dilakukan secara *in vitro*, sehingga hasilnya bisa berbeda jika diaplikasikan pada kondisi *in vivo* atau pada manusia.
3. Bunga telang dan jeruk nipis yang digunakan berasal dari lokasi tertentu, sehingga kandungan antosianin dan hasilnya bisa berbeda jika bahan berasal dari lokasi lain.
4. Penelitian ini hanya mengukur zona hambat tanpa mengevaluasi mekanisme kerja metabolit sekunder ekstrak terhadap bakteri secara molekuler.
5. Standar kekeruhan suspensi *Shigella dysenteriae* menggunakan standar McFarland 0,5.

1.6 Hipotesis

1. Kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) pada perbandingan tertentu memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dibandingkan perbandingan lainnya maupun ekstrak tunggal.
2. Kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mampu menurunkan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

terhadap *Shigella dysenteriae* dibandingkan ekstrak tunggal masing-masing bahan, sehingga menunjukkan adanya efek sinergis di antara kedua ekstrak.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae merupakan bakteri gram negatif bersifat anaerob yang dapat menginfeksi saluran pencernaan. Bakteri ini berbentuk batang, tidak motil karena tidak berflagel, tidak berspora, dengan ukuran sekitar lebar 0,5-1 μm dan panjang 1-3 μm , dan dapat hidup dalam usus manusia (CDC, 2023., Ramadhani dkk., 202). Berdasarkan karakteristik serologisnya, *Shigella* dibagi menjadi empat spesies yaitu, *Shigella dysenteriae* sebagai (tipe A), *Shigella flexneri* (tipe B), *Shigella boydii* (tipe C), dan *Shigella sonnei* (tipe D).

Shigella dysenteriae adalah jenis shigella yang paling virulen dan infeksiya dapat menyebabkan perdarahan pada usus besar (Keith dkk, 2019). *Shigella dysenteriae* merupakan salah satu spesies bakteri patogen dari genus *Shigella* yang dikenal memiliki tingkat virulensi paling tinggi. Bakteri ini dapat memproduksi eksotoksin berupa toksin shiga yang dapat merusak sel epitel usus, menyebabkan peradangan, diare berdarah, melisiskan eritrosit, serta merusak pembuluh darah kapiler, terutama pada ginjal. Akibatnya, infeksi *S. dysenteriae* dapat menimbulkan gejala klinis seperti diare berdarah dan bernanah, muntah, demam, serta kram perut, dan bahkan dapat berkembang menjadi komplikasi berat seperti sindrom uremik hemolitik (HUS) dan kejang (Amor dkk., 2024; Khairunnisa dkk., 2024). Selain itu, bakteri ini mampu bersimbiosis dengan bakteri enterik lain dan membentuk biofilm (Hmar dkk, 2024). Allah berfirman dalam surat Al-Baqarah ayat 26 yang berbunyi:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ^{قُلْ} فَأَمَّا الَّذِينَ أَمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ
 الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا
 وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ^{قُلْ} وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ (26)

Artinya: Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu (9) Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya (10) Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik (QS: Al-Baqarah [2]: 26)

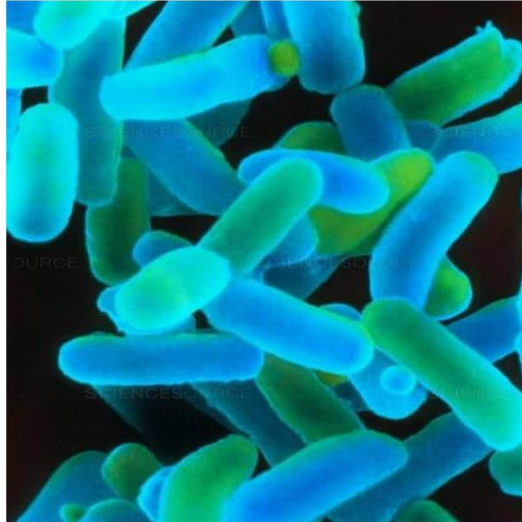
Menurut tafsir Ibnu Katsir dalam Syaikh (2004), frasa *فَمَا فَوْقَهَا* memiliki dua penafsiran. Salah satu pendapat menyatakan bahwa maknanya adalah “sesuatu yang lebih besar darinya,” karena tidak ada makhluk yang lebih kecil dan hina daripada nyamuk. Pendapat ini dikemukakan oleh Qatadah bin Di'amah dan dipilih oleh Ibnu Jarir ath-Thabari. Penafsiran tersebut diperkuat oleh hadis yang diriwayatkan oleh Aisyah bahwa Nabi Muhammad bersabda, “Tidaklah seorang muslim tertusuk duri atau sesuatu yang lebih besar darinya, melainkan dicatat baginya satu derajat dan dihapuskan satu dosa darinya” (HR. Muslim). Hal ini diperkuat oleh M. Quraish Shihab dalam *Tafsir Al-Misbah*, penyebutan kata *بَعُوضَةً* (seekor nyamuk) menunjukkan bahwa Allah tidak menganggap remeh makhluk yang berukuran sangat kecil untuk dijadikan pelajaran bagi manusia. Makhluk sekecil apa pun tetap memiliki fungsi, hikmah, dan menunjukkan kebesaran Allah. Oleh karena itu, manusia didorong untuk mengkaji dan meneliti ciptaan-Nya melalui ilmu pengetahuan agar dapat memahami manfaat serta rahasia yang terkandung di dalamnya (Shihab, 2002).

Melalui penjelasan tersebut, Allah menunjukkan bahwa Dia tidak memandang remeh sesuatu apa pun yang dijadikan-Nya sebagai perumpamaan, meskipun berupa makhluk kecil dan tampak hina seperti nyamuk. Sebagaimana Allah tidak meremehkan penciptaannya, Dia juga tidak segan menjadikannya sebagai perumpamaan, sebagaimana pula perumpamaan dengan lalat dan laba-laba dalam Al-Qur'an. Demikian pula, keberadaan bakteri *Shigella dysenteriae* sebagai makhluk mikroskopis yang digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian ini menunjukkan kebesaran Allah pada setiap ciptaan-Nya. Melalui pemanfaatan bakteri tersebut, penelitian ini berupaya mengungkap potensi antibakteri dari tanaman *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* sebagai bentuk tafakkur terhadap hikmah dan manfaat yang Allah ciptakan di alam.

2.1.1 Morfologi *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae adalah bakteri yang berbentuk batang, tidak motil karena tidak berflagel, tidak berspora, dengan ukuran sekitar lebar 0,5-1 μm dan panjang 1-3 μm , dan dapat hidup dalam usus manusia (CDC, 2023., Ramadhani dkk., 202; Batra, 2018). Bakteri ini termasuk bakteri Gram-negatif memiliki membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS), dengan lipid A yang terdiri dari disakarida glukosamin, gugus fosfat, dan rantasi asam lemak sebagai komponen hidrofobik utama yang berperan menjaga stabilitas membran. Kandungan asam lemak pada lipid A menyebabkan bagian ini bersifat hidrofobik dan berfungsi menjaga integritas membran luar bakteri Gram-negatif. Kerusakan pada struktur lipid A dapat meningkatkan permeabilitas membran dan menyebabkan gangguan integritas sel bakteri (Yan dkk. 2024). Selain itu, lipid A

dikenal sebagai komponen endotoksin utama yang dapat memicu respons inflamasi pada inang.



Gambar 2.1 *Shigella dysenteriae* di Bawah Mikroskop (Batra, 2018).

Shigella dysenteriae memiliki fimbriae yang merupakan struktur protein halus yang menonjol dari permukaan sel bakteri, walaupun tidak berfungsi sebagai alat gerak seperti flagela, fimbriae memainkan peran krusial dalam proses patogenesis. Struktur ini memungkinkan bakteri untuk melakukan adhesi, yaitu menempel secara kuat pada permukaan sel epitel usus. Dengan adanya fimbriae, *Shigella dysenteriae* dapat mempertahankan kontak erat dengan sel inang, sehingga memfasilitasi proses penetrasi ke dalam sitoplasma. Adhesi yang stabil melalui fimbriae menjadi prasyarat bagi aktivasi sistem sekresi tipe III (Type III Secretion System, T3SS), sebuah mekanisme molekuler yang digunakan bakteri untuk menyuntikkan protein efektor ke dalam sel inang.

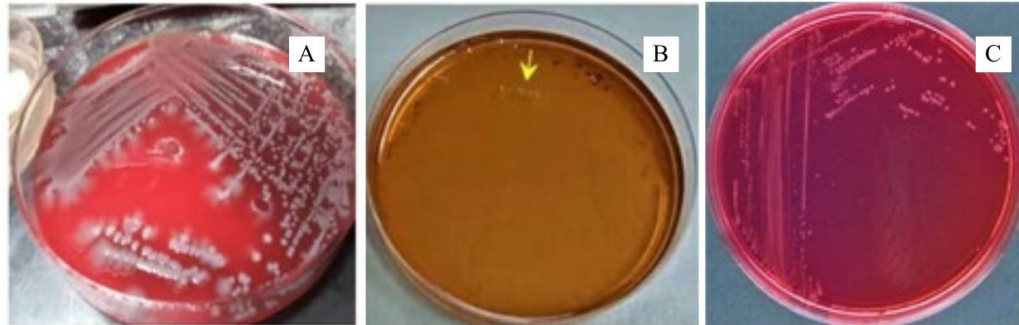
Shigella dysenteriae sangat mudah menular melalui jalur fekal-oral. Kurang dari 100 sel saja, bakteri ini dapat menginfeksi manusia dengan plasmid invasi (ipa genes seperti IpaB dan IpaC) dan sistem sekresi tipe III (T3SS) yang

memungkinkan penetrasi ke sel epitel usus (Hmar dkk, 2024). Setelah infeksi berlangsung, dampak patologisnya cukup serius, hasil pemeriksaan nekropsis menunjukkan adanya peradangan pada usus besar dan sekum (tiflokolitis), disertai luka-luka kecil yang menyebar (ulserasi multifokal) serta perdarahan pada permukaan mukosa usus dan kelenjar getah bening mesenterika. Usus besar tampak membesar dan berisi darah segar, sementara pada beberapa kasus, perdarahan kecil juga terlihat dari lapisan luar usus (serosa) yang disertai dengan pembengkakan jaringan (edema), menandakan respons inflamasi aktif terhadap invasi bakteri tersebut. (Keith dkk, 2019)

2.1.2 Pertumbuhan *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae memiliki adaptasi pertumbuhan yang cukup baik, bakteri ini dapat tumbuh pada 10-40°C dan tumbuh secara optimal pada suhu 37°C. *Shigella dysenteriae* dapat dikultur menggunakan berbagai media, baik selektif maupun non-selektif, di antaranya *Blood Agar* (BA) untuk mengamati hemolisis, *Salmonella Shigella Agar* (SSA) sebagai media selektif untuk isolasi, *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) untuk diferensiasi berdasarkan fermentasi karbohidrat dan produksi H₂S (Neyaz dkk, 2024), *Nutrient Agar* (NA) sebagai media dasar yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme dan sering digunakan untuk pemeliharaan kultur murni serta uji kemurnian sebelum identifikasi lebih lanjut. Penggunaan NA disarankan karena sifatnya yang sederhana, ekonomis, dan mampu mempertahankan viabilitas bakteri dalam jangka waktu lebih lama tanpa kondisi khusus. Berdasarkan standar komposisi, NA dibuat dengan 23 g bubuk per 1 liter (1000 mL) aquades, sehingga untuk kebutuhan 220 mL diperlukan sekitar 5,1 g

bubuk NA (Sapkota, 2022). Gambar *Shigella dysenteriae* yang dikultur dalam media dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2. Kultur *Shigella dysenteriae*. (a) Kultur dalam media *Blood Agar* (BA), (b) Kultur dalam media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), (c) Kultur dalam media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) (Batra, 2018).

Shigella dysenteriae mengalami empat fase pertumbuhan dalam siklus hidupnya, yaitu fase lag, fase logaritmik (eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian (Risna dkk., 2022). Pada fase lag, bakteri berada dalam tahap adaptasi terhadap lingkungan media baru, di mana sel aktif melakukan sintesis enzim, RNA, dan komponen metabolik lainnya sebagai persiapan untuk pembelahan, namun jumlah sel belum mengalami peningkatan yang signifikan. Durasi fase lag sangat bervariasi bergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal, serta sifat fisiologis mikroorganisme pada media sebelumnya (Risna dkk., 2022). Memasuki fase logaritmik, *S. dysenteriae* mulai membelah diri secara eksponensial dengan waktu generasi yang konstan, di mana pada kondisi optimum yaitu suhu 37°C dan pH netral, koloni bakteri ini dapat mencapai diameter sekitar 2 mm dalam waktu 24 jam inkubasi (Pakbin, 2023).

Pada fase logaritmik, aktivitas metabolisme dan virulensi bakteri berada pada puncaknya, sehingga fase logaritmik menjadi fase yang paling relevan dalam

pengujian aktivitas antibakteri karena mencerminkan kondisi bakteri yang paling aktif dan representatif. Selanjutnya, pada fase stasioner, laju pertumbuhan mulai seimbang dengan laju kematian akibat penipisan nutrisi dan akumulasi produk metabolit toksik di dalam media, sehingga jumlah total sel cenderung konstan (Risna dkk., 2022). Kondisi stres lingkungan pada fase stasioner ini justru dilaporkan dapat memicu ekspresi gen-gen virulensi tertentu pada *Shigella*, termasuk gen yang berperan dalam resistensi terhadap kondisi asam dan pembentukan biofilm, sebagai mekanisme adaptasi untuk mempertahankan kelangsungan hidup bakteri (Lan dkk., 2021). Pada fase kematian, jumlah sel yang mati melebihi jumlah sel yang membelah, ditandai dengan penurunan kepadatan populasi bakteri secara progresif akibat kondisi lingkungan yang sudah tidak mendukung pertumbuhan (Risna dkk., 2022). Alternatif pengobatan *Shigella dysenteriae*

Upaya untuk mengatasi resistensi *Shigella dysenteriae* telah dilakukan dengan mengeksplorasi bahan alami sebagai alternatif terapi. Masyarakat Indonesia sendiri sudah sering menggunakan antibakteri yang berbahan dasar dari tumbuh-tumbuhan. Antibakteri sendiri adalah senyawa atau zat yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Senyawa antibakteri dapat berasal dari bahan alami seperti tumbuhan maupun organisme lainnya (Ramadhani, dkk. 2024). Mekanisme kerja antibakteri melibatkan gangguan pada struktur membran sel bakteri, penghambatan sintesis protein, atau interferensi pada proses metabolisme bakteri. Kandungan metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah flavonoid, tannin, saponin dan alkaloid (Dewi dkk., 2021).

Sejauh ini sudah ada beberapa penelitian mengenai alternatif pengobatan untuk menangani infeksi bakteri *Shigella dysenteriae* dengan menggunakan bahan-bahan herbal berupa tanaman lokal. Salah satunya adalah daun sukun (*Artocarpus artilis*), daun sukun mengandung senyawa terpenoid dan saponin yang terbukti menghambat pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae* sebesar $18,33 \pm 5,57$ mm (Qolbi & Yulianti, 2018). Penelitian oleh Khairunnisa dkk, (2024). yang menggunakan ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb) menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang bangle memiliki potensi sebagai agen antibakteri, terutama pada konsentrasi tinggi, meskipun efektivitasnya belum sepenuhnya setara dengan ciprofloxacin. konsentrasi 50%, 75%, dan 100% dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar 12,8 mm, 13,8 mm, dan 14,3 mm, menandakan efektivitas yang konsisten dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*.

Penelitian oleh Sari & Asri, (2022) menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk nipis konsentrasi 37,5% dan 50% memberikan pengaruh yang terbaik dalam menghambat *S. dysenteriae* dengan masing-masing zona hambat sebesar $2,96 \pm 0,34$ cm dan $3,35 \pm 0,26$ cm. Senyawa-senyawa yang ada pada kedua bahan tersebut yang diduga dapat menghambat aktivitas *Shigella dysenteriae* yakni tanin, polifenol, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Kulit jeruk nipis mengandung saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri yang memiliki aktivitas antibakteri.

2.2 Bahan Alami yang diuji

2.2.1 Bunga Telang (*Clitoria ternatea*)

Bunga telang (*Clitoria ternatea*) adalah tumbuhan endemik yang berasal dari wilayah tropis Asia, termasuk Indonesia, India, dan Filipina, serta telah menyebar ke berbagai daerah tropis lainnya. Tanaman ini tumbuh baik di daerah

dengan iklim panas dan lembab, baik secara liar di semak belukar, tepi hutan, maupun dibudidayakan di pekarangan sebagai tanaman hias dan obat tradisional (Yurisna dkk., 2022). Tanaman ini termasuk semak merambat (*woody climbing shrub*) dengan batang kecil, memiliki bunga berwarna menarik dari ungu sampai biru dengan dasar kuning, Bunganya berbentuk kupu-kupu, berwarna biru tua dengan semburat putih di bagian tengah mahkota, meskipun ada juga varietas dengan warna putih, berukuran 4 cm kali 3 cm dan dapat berbunga sepanjang tahun (Maneesai dkk., 2021). Buahnya berupa polong pipih memanjang yang berisi beberapa biji kecil. Akar bunga telang merupakan akar tunggang yang kuat dan mampu bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium* untuk mengikat nitrogen dari udara (Putri dkk., 2024). (Gambar 2.2.1).



Gambar 2.5. Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) (Sholihatunnisa & Mega Ramadhania, 2024).

Klasifikasi Bunga telang menurut (Angelina, R., & Syuhada, F. A. 2023)

adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Fabales

Famili : Fabaceae

Genus : Clitoria

Spesies : *Clitoria ternatea*

Tanaman ini termasuk ke dalam keluarga fabaceae atau suku polong-polongan dengan nomor kromosom $2n=16$ (Sari & Hidayati 2023). Dalam budaya masyarakat Indonesia, bunga telang telah lama digunakan sebagai pewarna alami makanan, minuman, dan juga sebagai tanaman obat untuk pengobatan tradisional. Tanaman ini dikenal karena bunganya yang berwarna biru keunguan mencolok, yang sering digunakan sebagai pewarna alami dalam sajian kuliner seperti nasi biru, teh bunga telang, atau kue tradisional (Dharmayanti, L. 2024). Teh dari bunga telang, misalnya, dipercaya mampu membantu menurunkan tekanan darah, melancarkan sirkulasi darah, dan menangkal radikal bebas. Karena khasiat dan kandungan aktif tersebut, bunga telang banyak dimanfaatkan baik dalam pengobatan herbal maupun sebagai pewarna alami yang aman untuk makanan dan minuman (Jeyaraj dkk., 2020). Pemanfaatannya dalam industri makanan sudah berkembang hingga sekarang banyak penelitian terbaru yang menggunakan antioksidan dari bunga telang sebagai produk kosmetik seperti agen UV-filter alami (Sholihatunnisa & Mega Ramadhania, 2024). Selain itu, senyawa bioaktif lainnya pada bunga telang dapat berperan sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan analgesik, serta antiparasit dan antidiarrheal, obat diabetes, antikanker, antihistamin, dan sifat imunomodulator (Sholihatunnisa & Mega Ramadhania, 2024).

Bagian utama yang dimanfaatkan dari bunga telang adalah mahkota bunganya, yang mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin,

saponin, alkaloid, fenolik, dan terpenoid, yang secara kolektif berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. Antioksidan kuat, antidiabetes, antiinflamasi, serta dapat meningkatkan daya ingat dan fungsi kognitif (Yumni dkk., 2022; Budiasih, 2017; Manjula dkk., 2013; Ponnusamy dkk., 2015). Penelitian oleh Febrianti dkk. (2024) menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dengan Diameter Daya Hambat (DDH) hingga 10 mm pada konsentrasi 100%. pada penelitian Martini dkk. (2020) menunjukkan bunga telang yang dikeringkan pada 50°C menghasilkan total antosianin sebesar 249,70 mg/100g dengan aktivitas antioksidan dengan Nilai IC₅₀ 128, 25ppm.

Antioksidan yang kuat sering berkorelasi dengan aktivitas antibakteri yang kuat, karena senyawa fenolik dan flavonoid berperan ganda sebagai penangkal radikal bebas sekaligus penghambat pertumbuhan bakteri, hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Ispiryan dan rekan (2024) meneliti aktivitas antibakteri berbagai bagian morfologi tanaman raspberry (*Rubus idaeus* L.) serta hubungannya dengan kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun, bunga, dan buah raspberry memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, dan *Bacillus subtilis*, dengan zona hambat berkisar antara 9–21 mm. Sebaliknya, bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Enterobacter aerogenes* relatif resisten terhadap ekstrak, kecuali pada beberapa bagian tanaman seperti puree, biji, dan akar yang menunjukkan aktivitas terbatas.

2.2.2 Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*).

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan tanaman semak hingga pohon kecil yang bercabang banyak dan memiliki duri. Daunnya tersusun secara spiral,

bertipe majemuk dengan anak daun tunggal, bertangkai pendek, dan memiliki helaian berbentuk jorong hingga telur melebar berukuran sekitar $5-8 \times 2-4$ cm. Tepi daun membulat dan berkerut, dengan ujung tumpul yang kadang bertusuk. Bunga muncul secara soliter atau dalam kelompok berjumlah hingga tujuh, bersimetri radial dengan kelopak berbentuk mangkuk bersegmen empat atau lima. Mahkota bunga biasanya terdiri dari lima segmen berwarna putih, berukuran 1–1,2 cm, dan berdaging. Terdapat 20–25 benang sari dan bakal buah berbentuk bulat. Buahnya berwarna kuning kehijauan dengan variasi bentuk dari bulat, jorong, hingga telur sungsang, berdiameter 4–5 cm, berpermukaan halus dan kaya kelenjar minyak. Daging buah (sarkokarp) terdiri dari 9–12 segmen dan memiliki rasa sangat masam. Bijinya berbentuk telur dengan kotiledon berwarna putih susu (Zhang & Mabberley, 2008). Klasifikasi jeruk nipis menurut (Angelina, R., & Syuhada, F. A. 2023) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

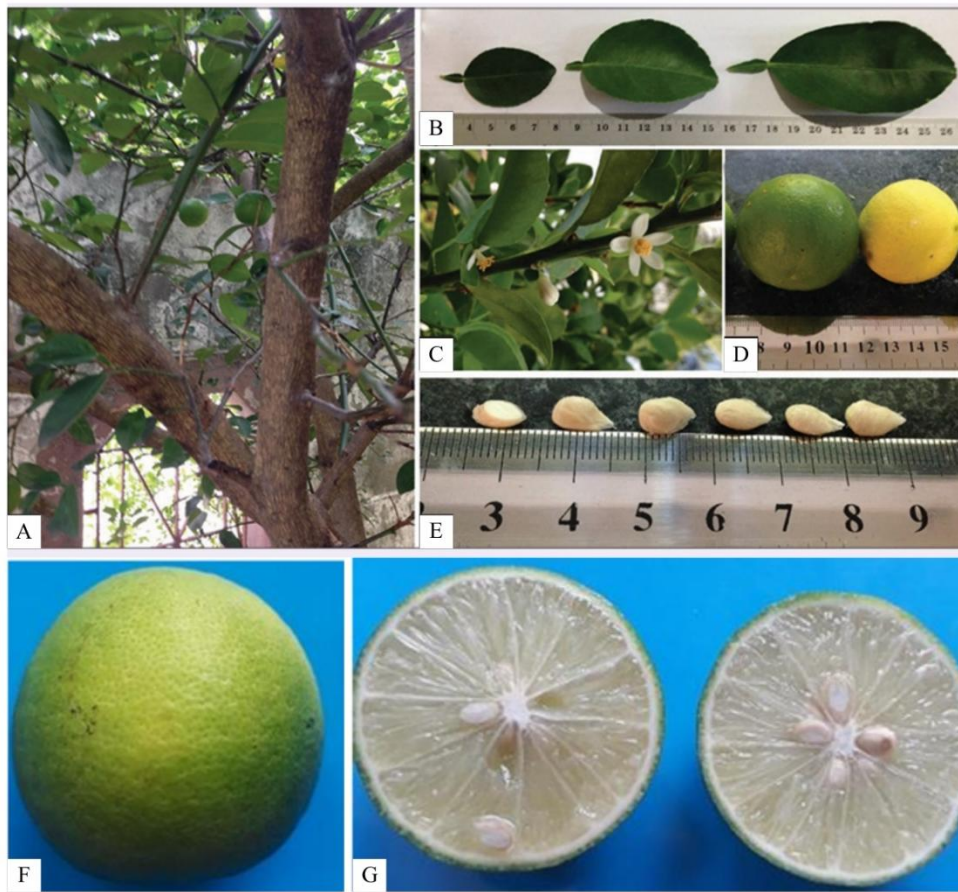
Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae

Genus : Citrus

Spesies : *Citrus aurantifolia*



Gambar 2.6. *Citrus aurantifolia* (a) batang dan cabang, (b) daun, (c) bunga, (d) buah muda dan matang, (e) biji, (f) buah utuh, (g) penampang buah (Patel dkk. 2016).

Jeruk nipis mengandung banyak senyawa bioaktif yang bermanfaat. Tumbuhan ini banyak dimanfaatkan, mulai dari bahan dapur hingga digunakan sebagai obat herbal. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa bagian buah, daun, dan kulit jeruk nipis mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid (apigenin, hesperetin, kaempferol, nobiletin, quercetin, dan rutin), flavon, flavanon (termasuk naringenin), triterpenoid, dan limonene yang berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba (Patel dkk., 2016). Okwu dan Emenike (2006) menganalisis kandungan fitokimia dan vitamin dari lima varietas jeruk termasuk *C. aurantifolia*, dan menemukan bahwa dalam 100 g buah terdapat alkaloid (0,4 mg),

flavonoid (0,6 mg), fenol (0,4 mg), tanin (0,04 mg), asam askorbat (62 mg), riboflavin (0,1 mg), tiamin (0,2 mg), dan niasin (0,5 mg). Mereka juga melaporkan kandungan nutrisi seperti protein kasar (18%), serat kasar (8%), karbohidrat (78%), kadar air (6%), lipid kasar (1%), abu (8%), dan energi sebesar 363 kalori per 100 g buah segar. Mineral utama yang ditemukan meliputi kalsium (3%), fosfor (0,4%), kalium (1%), magnesium (0,6%), dan natrium (0,4%).

Penelitian yang dilakukan oleh Imam dan Susan (2023) menunjukkan bahwa ekstrak kasar *Citrus aurantifolia* memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan Gram negatif *Escherichia coli*. Hasil uji menunjukkan bahwa *S. aureus* lebih rentan dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (MIC) sebesar 1/64 ml ($\approx 1,56\%$), sedangkan *E. coli* memiliki MIC sebesar 1/32 ml ($\approx 3,12\%$). Ugwu dan rekan (2018) juga meneliti aktivitas antibakteri ekstrak buah *Citrus aurantifolia* terhadap beberapa mikroorganisme, termasuk *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan jamur *Trichophyton rubrum*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki daya hambat paling tinggi dengan zona hambat mencapai 23 mm terhadap *P. aeruginosa*, sedangkan *E. coli* menunjukkan resistensi terhadap semua ekstrak. Ekstrak etanol memberikan daya hambat tertinggi pada *S. aureus* (14 mm), sementara ekstrak air menunjukkan aktivitas paling rendah. Jus buah jeruk nipis juga terbukti efektif, terutama terhadap *T. rubrum* dengan zona hambat mencapai 24 mm. Selain itu, uji KHM memperlihatkan bahwa *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dapat dihambat pada konsentrasi rendah (0,76%–0,156%), sedangkan *E. coli* membutuhkan konsentrasi sangat tinggi (20%)

2.2.3 Potensi Sinergis Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*).

Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) sendiri mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri. Misalnya Flavonoid, senyawa ini dapat merusak membran sel bakteri dan menghambat metabolisme seluler. Penelitian yang dilakukan oleh Rizkawati, (2023) menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang efektif melawan bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Febriantia, dkk. 2023). Namun demikian, aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram- negatif biasanya perlu konsentrasi lebih tinggi dari pada bakteri Gram positif. Ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih efektif terhadap bakteri Gram positif dibandingkan Gram-negatif. Fraksi kaya antosianin memiliki aktivitas yang lebih kuat dibandingkan ekstrak kasar, dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 0,63 mg/mL terhadap *Bacillus cereus* dan *Bacillus subtilis*. Sementara itu, terhadap bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli*, aktivitas penghambatan masih terdeteksi tetapi memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi (10 mg/mL).

Perbedaan tersebut diduga karena membran luar bakteri Gram negatif merupakan penghalang utama bagi penetrasi senyawa flavonoid, karena bakteri Gram-negatif memiliki membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS). LPS mengandung komponen lipid A yang terdiri dari disakarida glukosamin, gugus fosfat, dan rantasi asam lemak sebagai komponen hidrofobik yang berperan menjaga stabilitas membran. Kerusakan pada struktur lipid A dapat meningkatkan

permeabilitas membran dan menyebabkan gangguan integritas sel bakteri (Yan dkk. 2024).

Penelitian sebelumnya, kombinasi bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan sereh (*Cymbopogon citratus*) sebagai antibakteri memberikan potensi sinergis. Flavonoid dari bunga telang dapat memperkuat efek sitral dari sereh, sementara tanin dari kedua tanaman dapat bekerja bersama untuk merusak dinding sel bakteri. Kombinasi ini berpotensi digunakan untuk mengatasi bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Ulandari dkk, 2025). Optimasi serupa dapat dilakukan dengan mengombinasikan ekstrak Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea*). Jeruk nipis Kaya akan minyak atsiri (limonene, citral, linalool), asam sitrat, flavonoid (hesperidin, naringenin, eriocitrin, quercetin), yang mampu merusak stabilitas membran LPS (Fraga-Corral dkk. 2022; Wang dkk. 2018). Ini menunjukkan potensi jeruk nipis ketika dikombinasikan dengan bunga telang dapat membantu menghambat proses perkembangbiakan bakteri yang tidak dapat dibunuh oleh senyawa pada bunga telang yang sebelumnya. Penambahan jeruk nipis juga dapat menstabilkan antosianin karena jeruk nipis mengandung senyawa asam askorbat (Munawaroh, dkk. 2015).

2.2.4 Penetapan Konsentrasi Ekstrak

Konsentrasi yang digunakan merupakan konsentrasi minimum yang ditetapkan berdasarkan hasil penelitian terdahulu mengenai nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) masing-masing ekstrak tunggal. Penetapan konsentrasi minimum ini bertujuan agar pengujian lebih terfokus pada pengamatan efek sinergistik antar ekstrak. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak kulit

jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), memiliki aktivitas antibakteri pada berbagai konsentrasi terhadap beberapa jenis bakteri.

Poejiani, S. (2022) mendapatkan hasil bahwa ekstrak buah jeruk nipis pada konsentrasi 20-30% menghasilkan zona hambat kuat terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii*. Selain itu, Penelitian Aibinu et al. (2007) melaporkan bahwa jus buah jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM berkisar antara 6,4–25,6% terhadap berbagai bakteri patogen. Nilai KHM terhadap *Shigella flexnerii* sebesar 6,4%, terhadap *Klebsiella pneumoniae* sebesar 12,8%, serta terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*, dan *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 25,6%.

konsentrasi 25% sebaiknya digunakan karena didukung oleh beberapa literatur, seperti pada penelitian El Gharib dkk. (2023) melaporkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak bunga telang terhadap bakteri *Streptococcus sanguinis* diperoleh pada konsentrasi 25%, di mana pada konsentrasi tersebut pertumbuhan bakteri terhambat hingga 100%. Hal ini diperkuat oleh penelitian Darmawati dkk. (2022) yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga telang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL pada konsentrasi 25% dengan zona hambat rata-rata sebesar 6,3 mm, yang terus meningkat seiring peningkatan konsentrasi. Selain itu, penelitian Hasanah dkk. (2022) menggunakan konsentrasi 25% dan melaporkan bahwa ekstrak etanol dan metanol daun bunga telang menghasilkan zona hambat terhadap *E. coli* ESBL masing-masing sebesar 7,3 mm dan 7,4 mm, yang menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih baik dibandingkan kontrol negatif. Penelitian Rizkawati dan Rizkita (2023) dalam tinjauan literturnya juga menyebutkan bahwa ekstrak

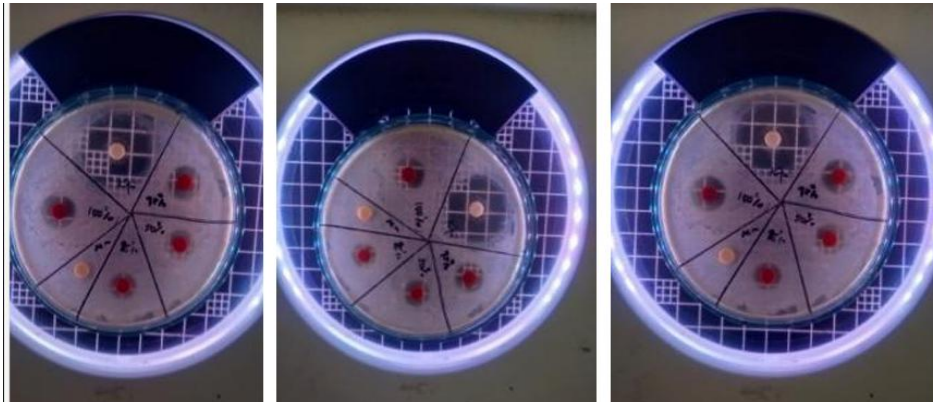
bunga telang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri Gram-negatif termasuk *Shigella flexneri* dan *Salmonella typhimurium*, sehingga mendukung potensinya terhadap *Shigella dysenteriae* yang berkerabat dekat.

2.3 Uji Antibakteri

2.3.1 Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram

Uji antibakteri bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan suatu senyawa, baik sintetik maupun alami, dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme patogen seperti *Shigella dysenteriae*. Aktivitas antibakteri dapat diuji melalui berbagai teknik, tergantung pada karakteristik bakteri target dan sifat senyawa uji. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri terhadap *S. dysenteriae* adalah metode difusi cakram. Media uji aktivitas antibakteri yang digunakan yaitu *Muller Hinton Agar* (MHA). Media ini merupakan media umum yang digunakan untuk uji aktivitas sinergis antara senyawa antibakteri dengan bakteri uji. Teknik ini melibatkan penempatan cakram kertas steril yang telah direndam dalam larutan ekstrak atau senyawa uji pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri. Setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam, terbentuk zona hambat di sekitar cakram yang menunjukkan efektivitas antibakteri dari senyawa tersebut (Febrianti, Widyasanti, & Nurhasanah, 2023).

Metode difusi cakram dinilai praktis, ekonomis, dan mampu memberikan hasil kuantitatif melalui pengukuran diameter zona hambat. Selain itu, teknik ini cocok digunakan untuk bakteri Gram-negatif seperti *S. dysenteriae*, karena sensitivitasnya terhadap senyawa antibakteri dapat diamati secara langsung melalui respon pertumbuhan pada media (Khairunniisa dkk, 2025) (**Gambar 2.4.**)



Gambar 2.7. Pola sensitivitas *Shigella dysenteriae* terhadap antibiotik menggunakan metode difusi cakram (Khairunniisa dkk, 2025).

Penelitian oleh Niswah, (2014) menunjukkan bahwa metode difusi cakram efektif untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume), di mana ekstrak etil asetat menghasilkan zona hambat terbesar terhadap *Staphylococcus aureus*. Pengamatan zona bening sebagai respon aktivitas antibakteri dilakukan setelah 24 jam waktu inkubasi. Pengukuran diameter clear zone menggunakan penggaris satuan cm. Hasil pengukuran dihitung menggunakan rumus (Khairunnisa dkk, 2024).

$$Z = (D1 - Dc) + (D2 - Dc)$$

Keterangan:

D1 = diameter vertikal

D2 = diameter horizontal

Dc = diameter cakram

Z = zona hambat

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan program SPSS 26.0 for windows menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov, dilanjut analisis varian (ANOVA) satu arah, dan uji Duncan untuk membandingkan hasil dari setiap perlakuan. Keunggulan metode difusi cakram adalah kesederhanaannya, biaya yang

relatif rendah, dan kemampuannya untuk menguji berbagai konsentrasi senyawa secara bersamaan. Namun, metode ini memiliki keterbatasan, seperti ketergantungan pada difusi senyawa melalui media agar, yang dapat memengaruhi hasil pengujian. Penelitian oleh Rosadi dkk. (2024) menggunakan metode ini untuk menguji efektivitas minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber montanum*) terhadap *Candida albicans*. Hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi minyak atsiri 50% menghasilkan zona hambat yang sangat kuat, sedangkan konsentrasi di bawah 50% menunjukkan aktivitas yang lebih lemah. Selain itu, metode difusi cakram sering digunakan dalam penelitian untuk membandingkan efektivitas senyawa alami dengan antibiotik sintetik. Seperti pada penelitian oleh Anggraini, (2021) yang menggunakan metode ini untuk menguji aktivitas antibakteri air rebusan daun sirih (*Piper betle* Linn) terhadap *Streptococcus pyogenes*. Hasilnya menunjukkan bahwa air rebusan daun sirih memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan, meskipun tidak sekuat antibiotik standar. Klasifikasi zona hambat pertumbuhan bakteri menurut Mellinia, dkk (2021) adalah sebagai berikut :

Tabel 2.1. Klasifikasi zona hambat pertumbuhan bakteri dengan kertas cakram

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
<5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat

Uji antibakteri ini merupakan tahap awal dalam mengevaluasi potensi suatu senyawa atau ekstrak terhadap mikroorganisme patogen. Metode yang umum digunakan adalah difusi agar atau cakram, yang hanya menunjukkan adanya zona hambat di sekitar sampel. Namun, hasil tersebut bersifat kualitatif dan belum memberikan informasi mengenai konsentrasi minimum yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh bakteri. Oleh karena itu, diperlukan studi lanjut

berupa uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) untuk memperoleh data kuantitatif yang lebih akurat mengenai efektivitas suatu agen antibakteri (Rimporok dkk., 2020).

2.3.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah metode lanjut dari uji antibakteri dengan metode difusi cakram. KHM digunakan untuk menentukan konsentrasi terendah suatu senyawa yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Metode ini menjadi 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. Uji KHM dengan metode mikrodilusi (*broth microdilution*) merupakan metode standar yang paling banyak digunakan dalam pengujian aktivitas antimikroba secara *in vitro*. Metode ini bekerja berdasarkan prinsip penghambatan pertumbuhan bakteri secara visual, di mana KHM sebagai konsentrasi terendah suatu senyawa uji yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang terlihat secara kasat mata.

Metode mikrodilusi lebih disarankan, karena akurasi, reproduibilitas, dan adaptabilitasnya di laboratorium, serta ditetapkan sebagai metode baku oleh *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) maupun *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Pelaksanaan metode ini diatur secara teknis dalam CLSI M07 Edisi ke-12 serta merujuk pada ISO 20776-1 sebagai standar internasional yang berlaku (CLSI, 2023). Konsentrasi yang digunakan merupakan konsentrasi minimum yang ditetapkan berdasarkan hasil penelitian terdahulu mengenai nilai KHM masing-masing ekstrak tunggal, di mana KHM

ekstrak bunga telang dilaporkan berkisar antara 10%–25% (Nabila dkk., 2022; El Gharib dkk., 2023) dan KHM ekstrak jeruk nipis berkisar antara 12,5%–37,5% (Pratiwi dkk., 2017; Sari & Asri, 2022). Penetapan konsentrasi minimum ini bertujuan agar pengujian lebih terfokus pada pengamatan efek sinergistik antar ekstrak, sehingga hasil yang diperoleh mencerminkan potensi kombinasi secara proporsional.

Pemilihan konsentrasi 25% pada kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) didasarkan pada beberapa penelitian yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada konsentrasi tersebut dan juga ditetapkan sebagai nilai KHM terhadap beberapa bakteri, seperti *Streptococcus mutans* dan *Prevotella intermedia* (Ulya dkk., 2019; Agatha dkk., 2021). Pada ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), beberapa penelitian juga melaporkan bahwa konsentrasi 25% telah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif, termasuk *Streptococcus sanguinis* dan *Escherichia coli* ESBL (Darmawati dkk., 2022; Hasanah dkk., 2022), serta ditetapkan sebagai nilai KHM terhadap *Streptococcus sanguinis* (El Gharib dkk., 2023).

Pengujian KHM dengan mikrodilusi menggunakan *microplate* 96 dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran bertingkat dua kali lipat (*twofold serial dilution*) senyawa uji secara horizontal pada *plate*, sehingga setiap baris atau kolom sumur mengandung konsentrasi yang berbeda-beda dari konsentrasi tertinggi hingga terendah. Media yang digunakan adalah *Mueller-Hinton Broth* (MHB), yang diformulasikan secara khusus untuk mempertahankan kadar kation divalen secara konsisten, yaitu 50–90 mg/L kalsium dan 20–40 mg/L magnesium, guna menghasilkan aktivitas antimikroba yang reproduibel. Volume akhir larutan pada

setiap sumur berkisar antara 100–200 μL sesuai rekomendasi EUCAST dan CLSI. Setiap *plate* dilengkapi dengan kontrol pertumbuhan positif, yaitu sumur yang berisi inokulum bakteri tanpa senyawa uji, serta kontrol negatif berupa sumur yang hanya berisi kaldu steril tanpa inokulum, guna memvalidasi keabsahan hasil pengujian (Forde dkk., 2024).

Inokulum bakteri disiapkan dengan membuat suspensi langsung dari koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada media agar non-selektif selama 18–24 jam, kemudian kekeruhannya disesuaikan hingga setara dengan standar McFarland 0,5 yang mengandung sekitar $1-2 \times 10^8$ CFU/mL. Suspensi tersebut selanjutnya diencerkan dalam kaldu sehingga konsentrasi akhir pada setiap sumur mencapai sekitar 5×10^5 CFU/mL. Setelah proses inokulasi, *plate* diinkubasi secara statis pada suhu 35–37°C selama 16–24 jam. Inkubasi pada suhu tersebut bertujuan untuk memberikan kondisi optimal bagi pertumbuhan bakteri sehingga efek penghambatan senyawa uji dapat diamati secara jelas. Nilai MIC kemudian ditentukan melalui inspeksi visual sebagai konsentrasi terendah pada sumur yang tidak menunjukkan kekeruhan atau pertumbuhan bakteri. Untuk memperoleh hasil yang lebih objektif dan kuantitatif, pembacaan dapat dibantu dengan *microplate reader* yang mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 600 nm (CLSI, 2024; Forde dkk., 2024). Nilai KHM ditentukan berdasarkan persentase inhibisi pertumbuhan bakteri ($\% \text{ inhibisi} \geq 50\%$) yang dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = 1 - \frac{(OD \text{ Sampel} - OD \text{ Background})}{(OD \text{ Kontrol Tumbuh} - OD \text{ Kontrol Media})} \times 100$$

Konsentrasi terendah yang menghasilkan $\% \text{ inhibisi} \geq 50\%$ ditetapkan sebagai nilai KHM (EUCAST, 2003; Wiegand et al., 2008). Selain itu, dilakukan pula

pengamatan visual terhadap tingkat kekeruhan pada setiap sumuran untuk melihat adanya pertumbuhan bakteri (Microbe Online, 2020).

2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan untuk mengambil metabolit sekunder dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*). Metabolit sekunder dapat diekstraksi secara optimal apabila menggunakan pelarut yang sesuai, karena pelarut berfungsi mengikat senyawa aktif berdasarkan polaritasnya (Rahayu, dkk. 2021). Tahapan awal ekstraksi dimulai dengan pembuatan simplisia, yaitu bahan alami yang telah dikeringkan dan dihancurkan hingga halus untuk meningkatkan luas permukaan kontak dengan pelarut (Supartono & Sari, 2018). Metode ekstraksi yang paling sesuai tergantung pada tujuan ekstraksi, jenis senyawa yang diinginkan, dan ketersediaan alat. Etanol dengan konsentrasi tinggi dapat dipilih karena mampu melarutkan senyawa flavonoid, fenolik, dan antosianin secara lebih efektif, sekaligus menjaga stabilitas senyawa bioaktif yang bersifat termolabil (Yulianti, dkk 2020). Pengaruh metode ekstraksi dan polaritas pelarut terhadap kadar fenolik total daun kersen (*Muntingia calabura* L).

Bunga Telang mengandung senyawa aktif seperti antosianin dan flavonoid yang bersifat termolabil, sehingga ekstraksi senyawa bioaktifnya menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% lebih cocok digunakan. Prosesnya juga sederhana dan tidak memerlukan suhu tinggi, sehingga senyawa termolabil tetap terjaga sebagai pewarna alami (Fauziyah, Widyasanti, & Rosalinda. 2022). Jeruk nipis mengandung minyak atsiri yang kaya akan limonene, flavonoid, dan senyawa asam lainnya yang membantu menstabilkan antosianin sehingga menghasilkan antioksidan yang lebih baik. Metode ekstraksi yang digunakan untuk jeruk nipis juga adalah metode maserasi dengan etanol 70%, karena teknik ini mampu

melarutkan senyawa flavonoid dan fenolik secara optimal tanpa merusak komponen bioaktif akibat pemanasan berlebih, sehingga penggunaan metode maserasi pada kedua bahan memberikan konsistensi dalam proses ekstraksi serta menjaga kualitas metabolit sekunder yang diperoleh.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* adalah penelitian eksperimental yang bersifat deskriptif dan kuantitatif menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain perlakuan perlakuan terdiri atas lima kelompok, yaitu P1 berupa kombinasi ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantiifolia* dengan perbandingan 25% : 75%, P2 berupa kombinasi ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantiifolia* dengan perbandingan 50% : 50%, P3 berupa kombinasi ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantiifolia* dengan perbandingan 75% : 25%, P4 berupa ekstrak tunggal *Clitoria ternatea* (100%), dan P5 berupa ekstrak tunggal *Citrus aurantiifolia* (100%). Kontrol positif (K⁺) berupa antibiotik ciprofloxacin 60%, kontrol negatif yaitu larutan DMSO 1% dan asam askorbat. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan untuk memastikan validitas dan konsistensi hasil. Hasil perlakuan uji antibakteri terbaik kemudian dilanjutkan ke uji konsentrasi hambat minimum (KHM).

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-April 2026. Ekstraksi senyawa dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, selanjutnya uji antibakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa variabel sebagai berikut:

1. Variabel bebas : Konsentrasi ekstrak bunga Telang (*Clitoria ternatea*), Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).
2. Variabel terikat: efektivitas antibakteri, konsentrasi hambat minimum, konsentrasi bunuh minimum
3. Variabel kontrol : Kontrol positif (K^+) Antibiotik ciprofloxacin 60%, Kontrol negatif (K^-) Larutan DMSO 1% dan Asam askorbat

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas, *rotary evaporator*, neraca analitik, *waterbath*, pH meter, inkubator bakteri, oven, autoklaf, batang pengaduk, spatula, mikropipet, *magnetic stirrer*, *laminar air flow*, *hotplate*, alat gelas, aluminium foil, inkubator, erlenmeyer, *koloni counter*, bunsen, cawan petri, tabung reaksi, *microplate*, *microplate reader*, & spektrofotometri.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia bunga Telang (*Clitoria ternatea*), dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), isolat *Shigella dysenteriae*, & Aquades, bakteri *Shigella dysenteriae* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, etanol 70%, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Natrium Agar* (NA) *blank disk*, NaCl 0,9%, disk ciprofloxacin, asam askorbat.

3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.5.1 Ekstraksi Metabolit Sekunder Bunga Telang

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel berupa simplisia/serbuk yang diproduksi dari rumah industri Gubuk Herbal Solo (bukan hasil penanaman sampai penyerbukan sendiri). Sample bunga telang diambil bagian mahkota bunganya saja dan dikeringkan pada suhu 40°C hingga kadar air berkurang tidak lebih dari 10%. Sample kemudian dibuat menjadi serbuk halus dan direndam dengan pelarut. 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 selanjutnya yakni maserasi dengan perendaman selama 1 x 24 jam dimana 6 jam awal dilakukan penggojokan menggunakan *shaker*, kemudian 18 jam selanjutnya dimaserasi. Setelah maserasi selesai, dilakukan menyaring menggunakan kertas saring sehingga hanya tersaring filtratnya saja. Setelah filtrat tersaring, kemudian dipindahkan dalam cawan porselen dan dikeringkan di atas waterbath dengan suhu 60-90°C sampai menjadi ekstrak kental. Ekstrak kental akan digunakan sebagai bahan uji aktivitas antibakteri yang akan dilarutkan lagi menggunakan DMSO 1%

3.5.2 Ekstraksi Metabolit Sekunder Jeruk Nipis

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel berupa buah jeruk nipis matang yang dibuang bagian albedo, flavedo, dan bijinya. Sampel diproduksi dari rumah industri Gubuk Herbal Solo (bukan hasil penanaman sampai penyerbukan sendiri). Sample jeruk nipis dikeringkan pada suhu 60°C hingga kadar air berkurang tidak lebih dari 10%. 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 maserasi yang digunakan adalah maserasi atau perendaman selama 1 x 24 jam dimana 6 jam awal dilakukan penggojokan menggunakan *shaker*, kemudian 18 jam selanjutnya dimaserasi. Setelah maserasi selesai dilakukan menyaring menggunakan kertas saring sehingga hanya tersaring filtratnya saja. Setelah filtrat tersaring, kemudian dipindahkan dalam cawan porselen dan dievaporasi di atas waterbath dengan suhu 60-90°C sampai menjadi ekstrak kental. Ekstrak kental akan digunakan sebagai bahan uji aktivitas antibakteri yang akan dilarutkan lagi menggunakan larutan kontrol DMSO 1%.

3.5.3 Persiapan Media Uji

Media yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tiga jenis, yaitu Nutrient Agar (NA), Mueller Hinton Broth (MHB), dan *Mueller Hinton Agar* (MHA), yang masing-masing memiliki fungsi berbeda sesuai tahapan pengujian. Media NA digunakan untuk peremajaan dan penyimpanan bakteri uji *Shigella dysenteriae*. Media ini merupakan media umum yang kaya nutrisi sehingga mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Media NA dibuat dengan melarutkan 2,3 g serbuk NA ke dalam 150 mL aquades, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan di atas hot plate hingga larutan berwarna bening, lalu disterilisasi dalam autoklaf. Media NA steril dituangkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 20 mL dan dibiarkan memadat sebelum digunakan untuk peremajaan isolat bakteri.

Media MHB digunakan sebagai media cair pada uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Media MHB dibuat dengan melarutkan 1 g serbuk MHB ke dalam 47 mL aquades, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan di atas hot plate

hingga larutan berwarna bening, lalu disterilisasi dalam autoklaf. Media MHB steril didistribusikan ke dalam sumur mikroplate 96 sebagai media suspensi bakteri selama uji MIC berlangsung.

Media MHA digunakan sebagai media uji aktivitas antibakteri pada metode disk diffusion. Media ini merupakan media umum yang digunakan untuk uji aktivitas sinergis antara senyawa antibakteri dengan bakteri uji seperti *Shigella dysenteriae* untuk menunjukkan ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk. Media MHA dibuat dengan melarutkan 5,7 g serbuk MHA ke dalam 150 mL aquades, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan di atas hot plate hingga larutan berwarna bening, lalu disterilisasi dalam autoklaf. Media MHA steril tersebut akan digunakan dan dituangkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 20 mL/cawan.

3.5.4 Kultur Bakteri

Kultur bakteri *Shigella dysenteriae* dilakukan pada media NA (*Nutrient Agar*). Bakteri yang digunakan diperoleh dari kultur murni yang dibeli dari Agavi Laboratorium. Bakteri yang didapatkan kemudian dilakukan peremajaan pada media NA yang telah disiapkan. Dilakukan inokulasi bakteri secara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dan menggunakan api bunsen yang telah disterilisasi ke dalam media NA yang sudah disiapkan (sudah steril) menggunakan metode streak plate (goresan) kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

3.5.5 Inokulasi *Shigella dysenteriae*

Inokulasi *Shigella dysenteriae* pada media Nutrient Agar (NA) dilakukan sebagai tahap peremajaan bakteri sebelum digunakan dalam pengujian. Isolat *Shigella dysenteriae* yang diperoleh dari laboratorium diambil menggunakan jarum

ose steril yang telah dipanaskan hingga memijar di atas nyala api bunsen dan dibiarkan dingin sejenak. Isolat kemudian digoreskan secara aseptis pada permukaan media NA menggunakan metode goresan (*streak plate*). Seluruh proses inokulasi dilakukan di dekat nyala api bunsen untuk menjaga kondisi tetap aseptis dan mencegah kontaminasi dari lingkungan sekitar. Media NA yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae* diamati secara visual untuk memastikan bakteri tumbuh dengan baik dan tidak terjadi kontaminasi sebelum digunakan pada tahap selanjutnya.

3.5.6 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji *Shigella dysenteriae* yang telah diremajakan pada media NA diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl 0,9%. Kekeruhan suspensi bakteri disesuaikan dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 yang setara dengan konsentrasi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Penyesuaian kekeruhan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm dengan nilai absorbansi 0,08–0,13. Apabila suspensi terlalu keruh, dilakukan pengenceran dengan menambahkan NaCl 0,9% secukupnya. Sebaliknya, apabila suspensi terlalu jernih, ditambahkan koloni bakteri hingga kekeruhan yang diinginkan tercapai. Suspensi bakteri yang telah memenuhi standar McFarland 0,5 selanjutnya digunakan segera sebagai inokulum dalam uji disk diffusion maupun uji MIC.

3.5.7 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak

Ekstrak kental bunga Telang (*Clitoria ternatea*), dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) hasil evaporasi masing-masing ditimbang untuk membuat stok dengan

konsentrasi 25% dengan pelarut DMSO 1%. Masing-masing ekstrak dibuat 5ml stok, sehingga perbandingan ekstrak dengan pelarutnya adalah 12,5gram ekstrak dan ditambah DMSO 1% sampai dengan 5ml. ekstrak dihomogenkan menggunakan batang pengaduk kemudian divortex agar tidak ada endapan yang menggumpal. Selanjutnya dibuat berbagai perbandingan untuk pengujian, perbandingan ekstrak yang akan digunakan untuk pengujian ada pada tabel berikut:

Tabel 3.2 Perbandingan Ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia*

Perlakuan	Perbandingan Ekstrak <i>Clitoria ternatea</i> : <i>Citrus aurantifolia</i>	Komposisi Ekstrak dalam 1 mL
P1	25% : 75%	250 μ L <i>Clitoria ternatea</i> + 750 μ L <i>Citrus aurantifolia</i>
P2	50% : 50%	500 μ L <i>Clitoria ternatea</i> + 500 μ L <i>Citrus aurantifolia</i>
P3	75% : 25%	750 μ L <i>Clitoria ternatea</i> + 250 μ L ekstrak <i>Citrus aurantifolia</i>
P4	100% : 0	1000 μ L <i>Clitoria ternatea</i>
P5	0 : 100%	1000 μ L ekstrak <i>Citrus aurantifolia</i>

Masing-masing perlakuan kemudian dihomogenkan menggunakan vortex agar tidak ada endapan yang menggumpal.

3.5.8 Uji Aktivitas Antibakteri

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 *Shigella dysenteriae* diinokulasikan ke media MHA menggunakan *cotton swab* menggunakan metode *streakplate*. Perlakuan yang digunakan terdiri atas P1 sampai P5.

Masing-masing ekstrak pada setiap perlakuan digunakan untuk merendam kertas cakram steril berdiameter 6 mm, kemudian kertas cakram tersebut diletakkan pada permukaan media MHA yang telah diinokulasikan *Shigella dysenteriae*. Kertas cakram juga direndam dalam kontrol positif (antibiotik) dan kontrol negatif (DMSO 1%), lalu ditempatkan pada media yang sama. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong (mm) dengan menghitung rata-rata diameter horizontal dan vertikal. Hasil pengukuran dianalisis untuk menentukan kategori daya hambat berdasarkan literatur yang relevan. Perbandingan kombinasi terbaik dari hasil pengujian ini kemudian dilanjutkan untuk penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

3.5.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan menggunakan metode dilusi cair (*broth microdilution*) pada mikropate 96-sumur dengan pendekatan turbidimetri, yaitu pengukuran absorbansi menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 600 nm. Suspensi *Shigella dysenteriae* terlebih dahulu disiapkan hingga mencapai kekeruhan setara McFarland 0,5 ($\pm 1,5 \times 10^8$ CFU/mL) untuk memastikan jumlah inokulum yang seragam. Mikropate 96-sumur disiapkan di dekat nyala api bunsen agar tidak terjadi kontaminasi dengan bakteri yang ada di udara. Setiap sumuran diisi dahulu dengan 100 μ L media Mueller Hinton Broth (MHB) steril. Selanjutnya, pada kolom 1 ditambahkan 100 μ L kombinasi ekstrak terbaik bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) pada konsentrasi 25%, kemudian dihomogenkan dengan cara menaikturunkan mikropipet pada sumuran.

Pengenceran bertingkat 2-fold dilakukan dengan memindahkan 100 μ L larutan dari kolom 1 ke kolom 2, dihomogenkan, kemudian 100 μ L dari kolom 2 dipindahkan ke kolom 3, dan seterusnya hingga kolom 5, sehingga diperoleh variasi konsentrasi secara berturut-turut 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 1,5625%. Sebanyak 100 μ L larutan sisa dari kolom 5 dibuang agar volume tiap sumur tetap seragam. Terakhir, ke dalam masing-masing sumur kolom 1 hingga 5 ditambahkan 100 μ L suspensi *Shigella dysenteriae* yang telah disetarakan dengan standar McFarland 0,5, sehingga volume akhir tiap sumur menjadi 200 μ L.

Kolom 9 ditetapkan sebagai kontrol media, berisi 100 μ L MHB steril tanpa bakteri maupun ekstrak. Kolom 10 ditetapkan sebagai kontrol media + ekstrak (*blank control*), berisi 90 μ L MHB dan 10 μ L kombinasi ekstrak pada konsentrasi 25% tanpa suspensi bakteri, yang berfungsi untuk mengoreksi kontribusi absorbansi warna ekstrak terhadap pembacaan. Kolom 11 ditetapkan sebagai kontrol pertumbuhan bakteri (kontrol positif), berisi 90 μ L suspensi bakteri dalam MHB tanpa penambahan ekstrak. Kolom 12 ditetapkan sebagai kontrol antibiotik, berisi 100 μ L suspensi bakteri dan 100 μ L ciprofloxacin 60% sebagai pembanding aktivitas hambat. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Seluruh sumur dihomogenkan secara perlahan dengan cara menggoyang mikropate kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Setelah inkubasi, absorbansi diukur menggunakan *microplate reader*. Nilai KHM ditentukan berdasarkan persentase inhibisi pertumbuhan bakteri (% inhibisi $\geq$ 50%) yang dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = 1 - \frac{(OD \text{ Sampel} - OD \text{ Background})}{(OD \text{ Kontrol Tumbuh} - OD \text{ Kontrol Media})} \times 100$$

Konsentrasi terendah yang menghasilkan % inhibisi $\geq 50\%$ ditetapkan sebagai nilai KHM. Selain itu, dilakukan pula pengamatan visual terhadap tingkat kekeruhan pada setiap sumuran untuk melihat adanya pertumbuhan bakteri.

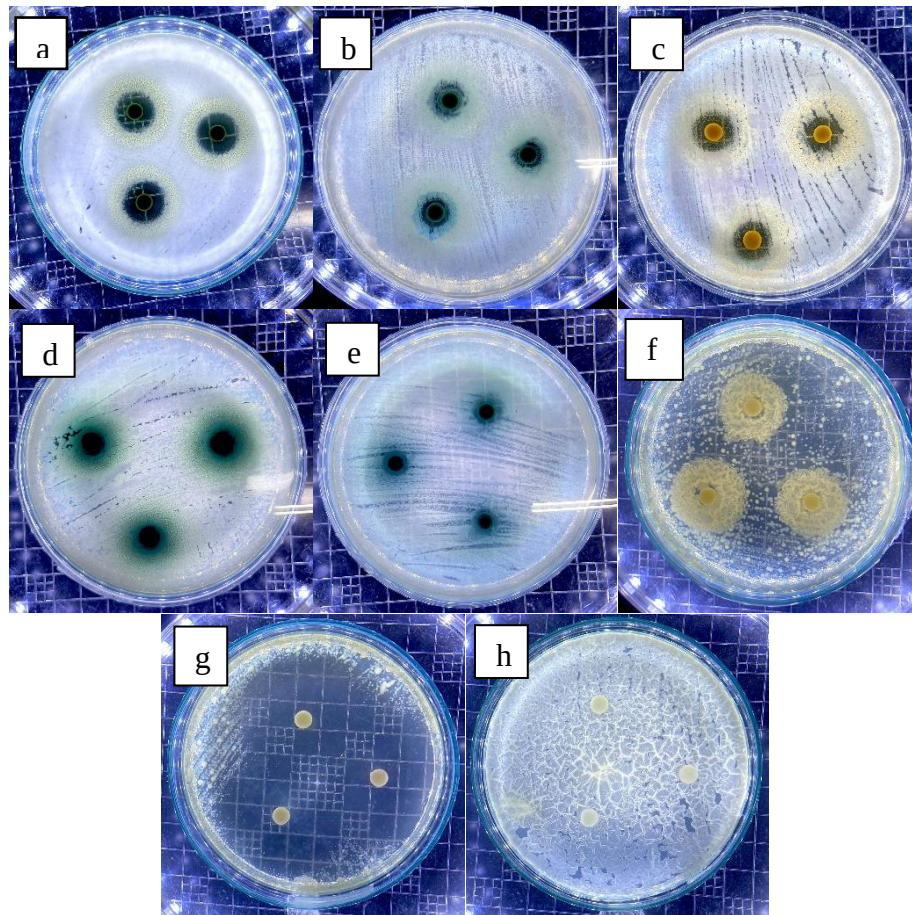
3.6 Analisis Data

Data zona hambat dianalisis menggunakan uji kruskal-wallis untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Jika hasil kruskal-wallis menunjukkan pengaruh yang nyata (signifikan). Uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dianalisis secara deskriptif untuk menentukan efektivitas kombinasi ekstrak dalam menghambat dan membunuh *Shigella dysenteriae*. KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah dari ekstrak yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri, ditunjukkan dengan kekeruhan media yang berkurang atau tidak ada pertumbuhan koloni. Hasil dari uji ini disajikan dalam bentuk tabel dan grafik untuk memperjelas perbandingan efektivitas antar perlakuan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* dengan Metode Cakram

Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* dengan metode cakram menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada seluruh perlakuan, meskipun dengan tingkat daya hambat yang berbeda-beda. Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat, perlakuan P1 dengan perbandingan ekstrak *Clitoria ternatea* : *Citrus aurantifolia* sebesar 25% : 75% menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi di antara seluruh kombinasi ekstrak, dengan rata-rata zona hambat sebesar 7,5 mm. Sementara itu, perlakuan P2 50% : 50%, P3 (75% : 25%), P4 (100% *Clitoria ternatea*), dan P5 (100% *Citrus aurantifolia*) menunjukkan rata-rata zona hambat berturut-turut sebesar 2,8 mm; 3 mm; 3,8 mm; dan 4,8 mm. Kontrol positif berupa ciprofloxacin menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 25 mm Sementara itu, kontrol negatif berupa asam askorbat dan DMSO 1% tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat (0 mm) (gambar 4.1)



Gambar 4.1 Diameter zona hambat kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae*. a) 1:3, b) 1:1, c) 3:1, d) ekstrak tunggal *Citrus aurantifolia*, e) ekstrak tunggal *Clitoria ternatea*, f) Asam askorbat, g) kontrol +, h) kontrol -, DMSO 1%

Ada atau tidaknya potensi antibakteri dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram, diakibatkan karena senyawa aktif yang terkandung dalam cakram akan berdifusi ke dalam media agar (Putri dkk. 2023). Konsentrasi ekstrak tertinggi berada di sekitar cakram, kemudian menurun seiring bertambahnya jarak dari cakram. Apabila senyawa aktif efektif menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tertentu, maka tidak akan terjadi pertumbuhan koloni pada area tersebut.

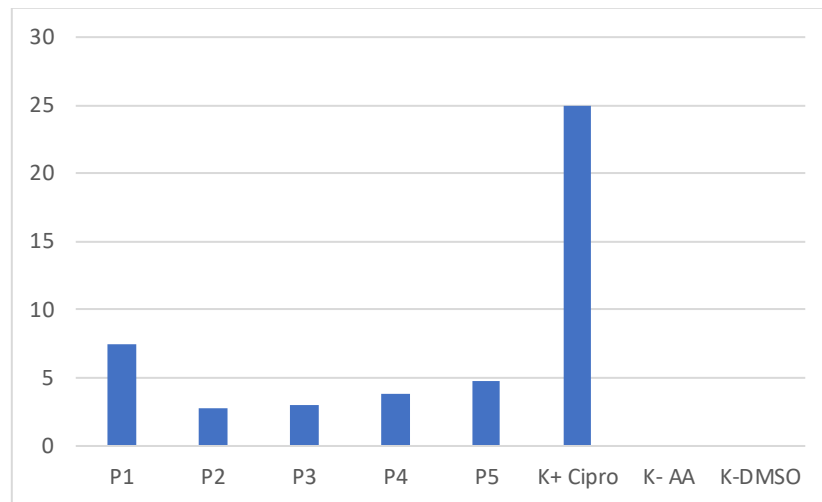
Perlakuan P1 dikategorikan sebagai daya hambat sedang, sementara perlakuan lainnya (P1-P5) termasuk kategori daya hambat lemah. Kontrol positif

berupa ciprofloxacin termasuk kategori daya hambat kuat, yang menunjukkan bahwa bakteri uji masih sensitif terhadap antibiotik tersebut. Sementara itu, kontrol negatif berupa asam askorbat dan DMSO 1% tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat (0 mm), sehingga dapat disimpulkan bahwa pelarut dan kontrol negatif yang digunakan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*.

Tabel 4.1 Diameter zona hambat kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae*.

Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori
P1	7,5	Sedang
P2	2,8	Lemah
P3	3	Lemah
P4	3,8	Lemah
P5	4,8	Lemah
Kontrol (+) Ciprofloxacin	25	Kuat
Kontrol (-) Asam Askorbat	0	Tidak ada
Kontrol (-) DMSO 1%	0	Tidak ada

Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* meskipun tidak sekuat Kontrol (+) Ciprofloxacin. Zona hambat *Shigella dysenteria* pada ekstrak tunggal *Clitoria ternatea* dan *Citrus aurantifolia* masing-masing tidak lebih besar dari P1, sehingga P1 adalah perlakuan terbaik dibandingkan dari ke-lima perlakuan uji seperti yang terlihat pada grafik berikut.



Gambar 4.1 Diameter zona hambat kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae*.

Sebagaimana sabda Rasulullah SAW yang diriwayatkan oleh Jabir bin Abdullah, bahwa Nabi bersabda:

عَنْ جَابِرٍ، عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ: لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: Jabir meriwayatkan bahwa Rasulullah SAW bersabda: "Ada obat untuk setiap penyakit, dan ketika obat itu diterapkan pada penyakit, maka ia disembuhkan dengan izin Allah, Yang Maha Tinggi dan Maha Agung." (HR. Muslim no. 2204)

Hadis riwayat muslim di atas menunjukkan bahwa Allah menciptakan penyakit beserta dzat penyembuhannya, sehingga manusia dianjurkan untuk terus berikhtiar mencari pengobatan yang bermanfaat melalui ilmu pengetahuan dan penelitian. Menurut Ibnu Qayyim al-Jauziyyah dalam *Zād al-Ma'ād*, penekanan pada sabda Rasulullah لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ (*likulli dā'in dawā'un*) yang berarti "setiap penyakit memiliki obat" menunjukkan bahwa Allah SWT telah menyediakan penawar bagi setiap penyakit, meskipun tidak seluruhnya telah diketahui oleh

manusia. Imam An-Nawawi dalam syarahnya juga menjelaskan bahwa hadis ini mengandung dorongan untuk berobat *التَّداوِي* (*at-tadāwī*) dan melakukan pencarian terhadap terapi yang sesuai bagi setiap penyakit, karena kesembuhan terjadi apabila pengobatan atau *دَوَاءٌ* yang diberikan sesuai dengan karakter penyakit atas izin Allah SWT, sehingga penelitian ini menjadi salah satu bentuk ikhtiar ilmiah dalam menemukan potensi pengobatan alami sebagaimana dianjurkan dalam ajaran Islam (Muslim, 2002).

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,002 ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan antarperlakuan dalam kemampuan menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*. Aktivitas antibakteri terbaik ditunjukkan oleh perlakuan P1 dengan perbandingan *Clitoria ternatea* : *Citrus aurantiifolia* sebesar 1:3, menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 7,5 mm yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Perbedaan diameter zona hambat pada tiap perlakuan diduga dipengaruhi oleh perbedaan komposisi senyawa aktif antibakteri pada masing-masing kombinasi ekstrak, serta aktivitas sinergis dari kedua ekstrak tersebut. Jeruk nipis yang lebih dominan pada perlakuan P1 diduga berkontribusi lebih besar terhadap efek penghambatan, mengingat kandungan minyak atsiri, flavonoid, dan asam sitrat pada *Citrus aurantiifolia* diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri gram negatif (Sari & Asri, 2022). Sementara itu, senyawa flavonoid dan alkaloid dari bunga telang diduga berperan sinergis dalam memperkuat mekanisme penghambatan tersebut (Nabila dkk., 2022).

Zona hambat yang dihasilkan pada penelitian ini cenderung lebih kecil dibandingkan zona hambat antibiotik standar maupun zona hambat pada

penggunaan konsentrasi ekstrak di atas 25%. Hal tersebut disebabkan karena penelitian ini difokuskan untuk mengetahui potensi sinergis kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*), bukan untuk memaksimalkan daya hambat pada konsentrasi tertinggi. Perlakuan P1 menghasilkan rata-rata diameter zona hambat tertinggi di antara seluruh kelompok kombinasi, yaitu sebesar 7,5 mm yang termasuk dalam kategori sedang. Hasil ini menunjukkan bahwa pada rasio kombinasi P1 dengan proporsi jeruk nipis yang lebih dominan dibandingkan bunga telang (75% : 25%), memiliki efek penghambatan terhadap *Shigella dysenteriae* lebih optimal dibandingkan perlakuan lainnya. Optimalisasi formula ini sejalan dengan Jelita dkk. (2020) yang menyatakan bahwa aktivitas antibakteri tanaman herbal terhadap *S. dysenteriae* dapat bersifat sebanding dengan antibiotik konvensional apabila dioptimalkan formulasinya.

Perlakuan P2, P3, P4, dan P5 menghasilkan rata-rata zona hambat masing-masing sebesar 2,8 mm; 3,0 mm; 3,8 mm; dan 4,8 mm, yang seluruhnya termasuk dalam kategori lemah (<5 mm). Hasil ini menunjukkan bahwa masing-masing kelompok perlakuan tetap memiliki aktivitas penghambatan yang nyata dibandingkan kontrol negatif, walaupun masih tergolong lemah pada konsentrasi 25%. Rendahnya zona hambat pada kelompok P2 hingga P5 dipengaruhi oleh karakteristik struktural *S. dysenteriae* sebagai bakteri Gram negatif yang memiliki lapisan lipopolisakarida (LPS) pada membran luarnya (Yan dkk, 2024).

Lapisan LPS mengandung komponen lipid A yang terdiri dari disakarida glukosamin, gugus fosfat, dan rantasi asam lemak sebagai komponen hidrofobik yang berperan menjaga stabilitas membran. Pada kelompok P2 hingga P5 dengan

proporsi bunga telang relatif lebih besar, senyawa flavonoid dan antosianin bersifat polar menghadapi hambatan membran luar *S. dysenteriae* yang lebih besar tanpa didukung oleh proporsi asam sitrat dari jeruk nipis yang memadai sebagai agen permeabilisasi membran (Sisson dkk, 2024), sehingga efektivitas penghambatannya menjadi lebih terbatas dibandingkan perlakuan P1. Penelitian yang dilakukan oleh Yan dkk. (2024) menunjukkan bahwa flavonoid tanaman menunjukkan aktivitas yang sangat lemah terhadap bakteri Gram negatif dengan nilai MIC jauh lebih tinggi dibandingkan terhadap bakteri Gram positif, mengindikasikan bahwa membran luar bakteri Gram negatif merupakan penghalang utama bagi penetrasi senyawa flavonoid. Inilah mengapa peranan asam sitrat dari jeruk nipis sangat berperan pada inisiasi terhadap masuknya senyawa antibakteri pada bunga telang.

Khadse dkk. (2008) menjelaskan bahwa resistensi *S. dysenteriae* terhadap berbagai agen antimikroba berkaitan erat dengan modifikasi *outer membrane porin* OmpF dan OmpC, di mana isolat klinis *Shigella* yang mengalami mutasi pada porin OmpF terbukti resistan terhadap sejumlah antibiotik karena porin merupakan jalur utama penetrasi senyawa menembus membran luar. Dominasi jeruk nipis pada perlakuan P1 menjadi faktor keberhasilan perbandingan kombinasi dalam menghasilkan zona hambat terbesar. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung asam sitrat dalam konsentrasi tinggi, konsentrasi asam sitrat pada jeruk nipis dapat mencapai 8% dari bobot kering (Yusnita dalam Anggrahini dkk., 2023). Asam sitrat merupakan asam organik triprotik yang memiliki tiga nilai pKa, yaitu sekitar 3,1; 4,7; dan 6,4. Pada kondisi pH tertentu, asam sitrat akan terionisasi membentuk spesies bermuatan negatif yang mampu mengkelat ion divalen seperti Ca^{2+} dan

Mg²⁺ pada membran luar bakteri Gram-negatif mekanisme antibakteri asam sitrat terjadi melalui kombinasi efek pengasaman lingkungan dan sekuestrasi ion divalen pada lapisan lipopolisakarida (LPS), yang menyebabkan destabilisasi membran luar dan berujung pada kematian sel bakteri (Burel dkk, 2021). Terbukanya membran luar *S. dysenteriae* inilah, senyawa bioaktif dari bunga telang memperoleh akses yang jauh lebih baik untuk menembus sel bakteri dan bekerja pada target intraselulernya.

Selain asam sitrat, jeruk nipis berkontribusi melalui kandungan naringenin dan hesperidin yang merupakan flavanon dominan pada *Citrus aurantifolia* (Patel dkk., 2016). Naringenin diketahui mampu memengaruhi struktur dan fluiditas membran sel bakteri Gram-negatif melalui perubahan komposisi asam lemak membran. Wang dkk. (2018) menggunakan analisis kombinasi gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) dan fluoresensi polarisasi untuk mengevaluasi efek naringenin terhadap membran bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan naringenin menyebabkan peningkatan fluiditas membran sel melalui perubahan komposisi asam lemak membran. Selain itu, pertumbuhan *S. aureus* juga terhambat secara signifikan bahkan pada konsentrasi naringenin yang rendah.

Mekanisme kerja naringenin dijelaskan lebih lanjut oleh Fraga-Corral dkk. (2022), yang menyebutkan bahwa pada konsentrasi rendah naringenin dapat menyebabkan gangguan komposisi asam lemak membran dan perubahan konformasi protein membran bakteri. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, naringenin meningkatkan permeabilitas membran secara signifikan serta menyebabkan perubahan morfologi sel bakteri. Kondisi tersebut mengakibatkan

integritas membran terganggu sehingga fungsi fisiologis sel bakteri menjadi tidak stabil. Selain naringenin, hesperidin yang terkandung dalam jeruk nipis juga berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. Ji dkk. (2024) melaporkan bahwa hesperidin memiliki efek antimikroba melalui kerusakan membran sel bakteri, gangguan sintesis DNA, dan penghambatan pembentukan biofilm. Pernyataan di atas mendukung hasil perlakuan P1 yang didominasi ekstrak jeruk nipis, senyawa asam sitrat, naringenin, dan hesperidin diduga bekerja secara simultan dalam melemahkan membran luar *Shigella dysenteriae*. Kerusakan membran tersebut kemudian memungkinkan senyawa aktif dari bunga telang lebih mudah memasuki sel bakteri dan memperkuat efek penghambatan antibakteri.

Meskipun proporsinya lebih kecil pada perlakuan P1, bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) berkontribusi melalui kandungan quercetin glikosida sebagai flavonol utama yang menyerang target intraseluler *S. dysenteriae* setelah membrannya didestabilisasi oleh senyawa jeruk nipis. Quercetin memiliki aktivitas antimikroba yang bekerja melalui beberapa mekanisme, antara lain mengganggu integritas membran sel, meningkatkan permeabilitas membran bakteri, serta menghambat pertumbuhan bakteri melalui interaksi dengan komponen penting sel mikroba (Herslambang dkk, 2020). Selain itu, quercetin juga dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif melalui penghambatan biosintesis dinding sel, gangguan permeabilitas membran, penghambatan enzim vital, serta penekanan ekspresi gen virulensi. Pada bakteri *Staphylococcus aureus*, quercetin berpotensi menghambat pembentukan protein virulensi yakni adhesi ClfB (*clumping factor B*), yaitu protein permukaan yang berperan penting dalam proses perlekatan awal bakteri pada jaringan inang dan pembentukan biofilm, sehingga

menurunkan kemampuan perlekatan dan pembentukan biofilm, bahkan pada konsentrasi sub-MIC, dengan penurunan pembentukan biofilm mencapai lebih dari 60% (Lesbatta dkk, 2026). Penghambatan ini sangat relevan terhadap *S. dysenteriae* karena ekspresi Ipa (*invasion plasmid antigen*) dikendalikan oleh regulasi virulensi dan quorum sensing tersebut mengkoordinasikan ekspresi protein invasi yang dibutuhkan bakteri untuk menginfeksi sel epitel usus.

Senyawa antosianin khususnya ternatin delphinidin yang merupakan komponen dominan pada bunga telang juga turut berperan sinergistik dalam penghambatan yang teramati pada perlakuan P1. Antosianin dan quercetin pada bunga telang termasuk senyawa flavonoid dengan subkelas yang berbeda. Antosianin bekerja sebagai antibakteri melalui berbagai mekanisme, termasuk kerusakan membran bakteri dan penekanan faktor virulensi seperti inhibisi aktivitas enzim, toksin, serta pembentukan biofilm (Riyanto dkk., 2019; Besan dkk., 2023). Kondisi pH asam yang tercipta oleh dominasi asam dari jeruk nipis juga meningkatkan stabilitas antosianin. Hal ini sesuai dengan sifat kimia antosianin yang dipaparkan oleh Fu dkk. (2021), bahwa antosianin bunga telang menunjukkan warna biru intens dan stabilitas optimal pada pH asam 3,2 hingga 5,2. Dengan demikian, dominasi jeruk nipis pada P1 tidak hanya membuka membran LPS, tetapi secara tidak langsung juga menstabilkan dan meningkatkan bioavailabilitas antosianin ternatin dari bunga telang, sehingga keduanya saling menguatkan secara sinergistik.

Perlakuan P5 dengan proporsi bunga telang paling besar di antara P2 hingga P5 menghasilkan zona hambat 4,8 mm yang merupakan yang tertinggi dalam kelompok lemah, namun tetap di bawah P1. Hal ini menunjukkan bahwa

peningkatan proporsi bunga telang secara bertahap dari P2 ke P5 memberikan kontribusi quercetin dan ternatin yang lebih besar, yang secara parsial mampu meningkatkan daya hambat. Namun, tanpa proporsi asam sitrat dan naringenin yang memadai dari jeruk nipis sebagai permeabilisator membran, senyawa bunga telang tidak dapat berpenetrasi optimal ke dalam sel *S. dysenteriae* yang berlapis LPS. Kondisi ini selaras dengan temuan penelitian kombinasi herbal yang dilaporkan oleh berbagai peneliti, bahwa efek sinergisme optimal terjadi bukan pada proporsi tertinggi salah satu komponen, melainkan pada rasio yang memungkinkan masing-masing senyawa bekerja pada mekanisme yang saling melengkapi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa zona hambat terbesar diperoleh bukan dari proporsi tertinggi salah satu komponen, melainkan dari rasio tertentu yang menunjukkan adanya efek sinergis antara kedua bahan aktif.

Kontrol negatif asam askorbat dan DMSO 1% menghasilkan zona hambat 0 mm pada seluruh replikasi, yang mengkonfirmasi bahwa aktivitas penghambatan pada seluruh kelompok perlakuan bukan disebabkan oleh pelarut maupun komponen pendukung, melainkan murni berasal dari senyawa bioaktif dalam kombinasi kedua ekstrak. Seluruh kelompok perlakuan menghasilkan zona hambat yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan kontrol positif ciprofloxacin dengan rata-rata 25 mm (kategori kuat). Hal ini wajar mengingat ciprofloxacin bekerja melalui inhibisi selektif DNA gyrase dan topoisomerase IV yang merupakan mekanisme sangat spesifik dan poten. Zona hambat yang dihasilkan kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis meskipun masih tergolong sedang hingga lemah pada konsentrasi 25%, memiliki nilai strategis sebagai alternatif terapi alami yang tidak memicu jalur resistensi yang sama dengan antibiotik.

Penelitian yang dilakukan Darmawati dkk. (2022) memperlihatkan pola serupa di mana zona hambat bunga telang terhadap *E. coli* terus meningkat dari konsentrasi 25% hingga 100%, sehingga optimasi konsentrasi kombinasi dengan rasio P1 dalam penelitian lanjutan berpotensi menghasilkan aktivitas antibakteri yang jauh lebih baik terhadap *Shigella dysenteriae*. Meskipun kombinasi ekstrak P1 menunjukkan peningkatan aktivitas dibandingkan perlakuan lain, efek sinergisme yang terbentuk tidak bisa sebesar penelitian terdahulu yang menghasilkan antibakteri lebih kuat. Hal ini disebabkan karena perbedaan kandungan metabolit sekunder akibat faktor varietas tanaman, kondisi lingkungan tumbuh, metode ekstraksi, serta jenis pelarut yang digunakan. Faktor-faktor tersebut diketahui berpengaruh terhadap kadar flavonoid, fenolik, dan senyawa bioaktif lain yang berperan sebagai antibakteri (Dai & Mumper, 2010).

4.2 Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri sebelumnya, perlakuan P1 dipilih untuk dilanjutkan ke pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) karena menunjukkan aktivitas penghambatan yang paling baik dibandingkan perlakuan lainnya. Pengujian ini dilakukan untuk menentukan konsentrasi minimal yang benar-benar mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Penentuan nilai KHM diperoleh dari dua cara yakni pengamatan secara visual dan selanjutnya divalidasi dengan pembacaan absorbansi dengan *microplate reader* (Tafroji dkk, 2022). Metode uji ini sejalan dengan ajaran Islam yang mendorong penggunaan sumber daya secara efisien dan menghindari pemborosan. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-A‘rāf ayat 31 agar manusia tidak berlebih-lebihan dalam menggunakan sesuatu karena Allah tidak menyukai orang-orang yang melampaui batas, ayat tersebut berbunyi:

يَبْنِيَّ آدَمَ خُذُوا زِينَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ
الْمُسْرِفِينَ^٤ (31)

Artinya: Wahai anak cucu Adam, pakailah pakaianmu yang indah pada setiap (memasuki) masjid dan makan serta minumlah, tetapi janganlah berlebihan. Sesungguhnya Dia tidak menyukai orang-orang yang berlebihan (QS: Al-A‘rāf [7]: 31).

Ayat ini merupakan perintah langsung dari Allah SWT yang mengandung nilai ketauhidan dalam setiap tindakan, termasuk dalam penggunaan sumber daya alam, yakni menghindari pemborosan (*tabdzir*). Hal ini sesuai dengan tafsir Ibnu Katsir, (2018) Imam Bukhari mengatakan, Ibnu Abbas berkata bahwa makna yang dimaksud ialah makanlah sesukamu dan berpakaianlah sesukamu asalkan engkau hindari dua sifat ini, yaitu berlebih-lebihan *al-isrāf* (الإسراف) dan sombong. Penentuan konsentrasi hambat minimum bertujuan menemukan jumlah terkecil bahan yang masih mampu memberikan efek antibakteri, sehingga penggunaan ekstrak menjadi lebih efisien dan tidak berlebihan sebagaimana diperintahkan Allah SWT. Prinsip serupa juga dijelaskan oleh M. Quraish Shihab dalam Tafsir Al-Misbah, bahwa larangan وَلَا تُسْرِفُوا (janganlah berlebihan) pada QS. Al-A‘rāf [7]: 31 tidak hanya berkaitan dengan makanan dan minuman, tetapi mencakup seluruh bentuk penggunaan nikmat Allah secara melampaui batas kebutuhan dan kemaslahatan (Shihab, 2002).

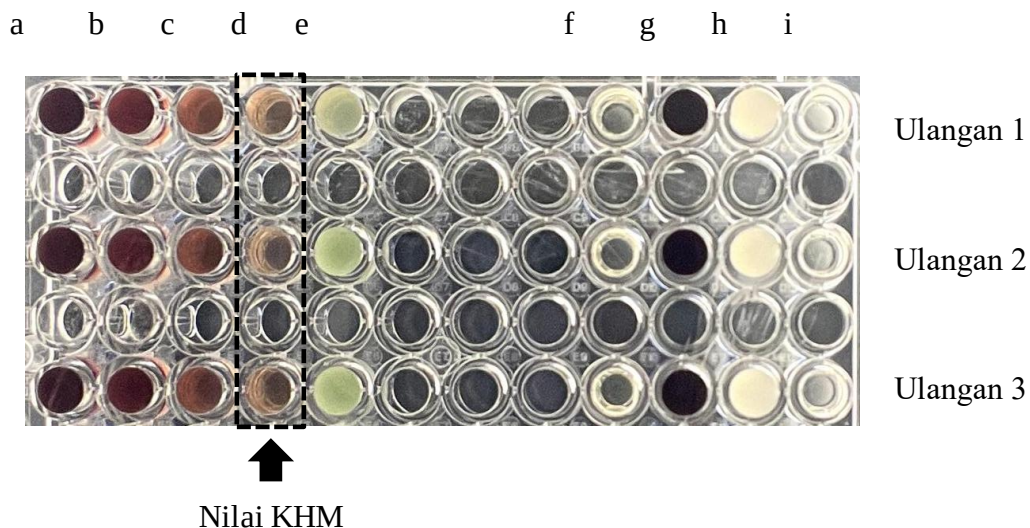
Prinsip anti-*isrāf* dalam ayat tersebut juga mengandung pesan *ma‘ālam* (dimensi alam) dan *ma‘annās* (dimensi sosial) dalam *Maqasid al-Syariah*. Pada tataran *ma‘alam*, prinsip anti-*isrāf* yang terkandung dalam QS. Al-A‘rāf [7]: 31 menuntun manusia untuk tidak boros dalam memanfaatkan sumber daya hayati

yang telah Allah SWT ciptakan di bumi, karena ketersediaan bahan yang digunakan bergantung pada proses budidaya dan kelestarian ekosistem. Pemanfaatan sumber daya alam diperbolehkan selama tidak menimbulkan kerusakan lingkungan (*fasad fil ardh*), sebagaimana ditegaskan dalam QS. Al-A'rāf [7]: 56 yang melarang manusia berbuat kerusakan di bumi setelah Allah memperbaikinya (Ramli, 2020). Penentuan nilai KHM ini merupakan bentuk operasional dari nilai tersebut, karena dengan mengetahui konsentrasi efektif minimum, pemanfaatan tanaman obat dapat dilakukan secara proporsional tanpa eksploitasi berlebihan. Al-Qardhawi (2001) menegaskan bahwa manusia sebagai khalifah bertanggung jawab menjaga keseimbangan alam, sehingga setiap pemanfaatan sumber daya alam harus dilakukan dengan penuh pertimbangan dan tidak melampaui batas kebutuhan.

Pada tataran *ma'annas*, prinsip efisiensi yang dituntun oleh QS. Al-A'rāf [7]: 31 memiliki implikasi langsung terhadap kebermanfaatan sosial bagi masyarakat luas. Ketika dosis efektif minimum suatu bahan antibakteri alami berhasil ditentukan, maka produk yang dikembangkan dari penelitian ini berpotensi menjadi alternatif pengobatan yang terjangkau, mudah diakses, dan tidak membebani masyarakat secara ekonomi. Hal ini sejalan dengan tujuan *maqashid al-syariah* dalam dimensi *hifzh al-nafs* (menjaga jiwa) dan *hifzh al-mal* (menjaga harta), yang menghendaki bahwa layanan kesehatan hendaknya dapat dijangkau oleh seluruh lapisan masyarakat tanpa pemborosan sumber daya (Auda, 2008). Islam mendorong *maslahah al-ummah* sebagai orientasi utama ilmu pengetahuan, di mana temuan ilmiah semestinya diarahkan untuk meringankan beban sesama manusia (Ramli, 2020).

4.2.1 Hasil Uji Kualitatif dengan Pengamatan Visual

Hasil uji mikrodilusi yang diperoleh dengan pengamatan visual menunjukkan adanya perubahan intensitas kekeruhan pada tiap konsentrasi kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis terhadap *Shigella dysenteriae*. Pada penelitian ini, pengamatan visual dilakukan berdasarkan perubahan warna dan tingkat kekeruhan pada setiap sumur setelah penambahan indikator. Perlakuan dengan konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; dan 3,125% sumuran tampak berwarna merah keunguan hingga jingga, semuanya tampak lebih jernih tanpa adanya kekeruhan dibanding kontrol pertumbuhan. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa pertumbuhan *Shigella dysenteriae* terhambat. Sebaliknya, pada konsentrasi 1,562% terlihat warna hijau muda yang disertai kekeruhan. Hal ini menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada media karena konsentrasi ekstrak tidak lagi mampu menghambat proliferasi bakteri (gambar 4.2).



Gambar 4.2 Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi. a) konsentrasi 25%, b) konsentrasi 12,5%, c) konsentrasi 6,25%, d) konsentrasi 3,125%, e) konsentrasi 25%, f) kontrol media, g) kontrol media & ekstrak (blank), h) kontrol media + bakteri, i), kontrol media & ciprofolxacin.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) secara visual pada metode mikrodilusi didasarkan pada pengamatan kejernihan media setelah inkubasi. Prinsip metode ini adalah bahwa sumur yang menunjukkan pertumbuhan bakteri akan tampak keruh akibat peningkatan jumlah sel bakteri, sedangkan sumur yang pertumbuhan bakterinya terhambat akan tampak lebih jernih atau tidak menunjukkan kekeruhan (Wiegand dkk., 2008). Jika perlakuan lebih jernih dibanding kontrol pertumbuhan, maka kondisi tersebut menandakan terhambatnya proliferasi bakteri (Putri dkk. 2023). Oleh karena itu, berdasarkan pengamatan visual, konsentrasi 3,125% ditetapkan sebagai nilai KHM karena merupakan konsentrasi terendah yang masih mampu menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*, sedangkan pada konsentrasi di bawahnya bakteri mulai kembali tumbuh (Wiegand dkk., 2008).

Tabel 4.2 Hasil Uji Kualitatif dengan Pengamatan visual

Konsentrasi	Pengamatan visual	Interpretasi
25%	Jernih	Hambatan pertumbuhan kuat
12,5%	Jernih	Hambatan pertumbuhan kuat
6,25%	Jernih	Hambatan pertumbuhan kuat
3,125%	Jernih	Hambatan pertumbuhan kuat
1,562%	keruh	Adanya pertumbuhan bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>
Kontrol media	jernih	Tidak ada pertumbuhan bakteri
Kontrol media + ekstrak	jernih	Pigmen ekstrak berpengaruh terhadap absorbansi
Kontrol media + bakteri	keruh	<i>Shigella dysenteriae</i> tumbuh dengan baik
Kontrol media + ciprofloxacin	Jernih	Hambatan pertumbuhan kuat

Meskipun metode pengamatan visual dapat memberikan gambaran awal mengenai adanya hambatan pertumbuhan bakteri, pendekatan ini memiliki beberapa keterbatasan, terutama ketika digunakan pada bahan uji yang memiliki warna alami yang kuat. Ekstrak bunga telang diketahui mengandung antosianin,

khususnya golongan ternatin (*delphinidin 3,5',5'-triglucoside*), yang memberikan warna biru hingga ungu pekat pada larutan (Suarna & Wijaya, 2021; Ramdan & Wulandari, 2023). Keberadaan pigmen tersebut menyebabkan sumbu perlakuan tetap tampak berwarna meskipun pertumbuhan bakteri terhambat. Kondisi ini dapat menyulitkan peneliti dalam membedakan antara perubahan tampilan yang disebabkan oleh warna ekstrak dengan kekeruhan yang sebenarnya berasal dari pertumbuhan bakteri. Selain itu, pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, intensitas warna yang dominan dapat menutupi perubahan visual yang relatif kecil akibat pertumbuhan mikroorganisme, sehingga interpretasi hasil menjadi lebih subjektif dan berpotensi menimbulkan bias pengamatan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Cos dkk. (2006) bahwa pengujian antimikroba menggunakan ekstrak tumbuhan kasar yang berwarna menghadirkan tantangan tersendiri dalam pembacaan hasil karena kandungan pigmen dapat mengganggu visualisasi pertumbuhan bakteri secara langsung.

Oleh karena itu, pengamatan visual saja belum cukup untuk memastikan secara akurat nilai KHM yang diperoleh. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Klančnik dkk. (2010) bahwa pengamatan visual pertumbuhan bakteri kurang objektif dan presisi, serta akurasi pembacaan spektrofotometri dapat terganggu oleh adanya senyawa tambahan yang memengaruhi karakteristik spektral media pertumbuhan. Diperlukan metode yang lebih objektif dan kuantitatif untuk memvalidasi hasil tersebut. Salah satu metode yang umum digunakan adalah pembacaan absorbansi menggunakan *microplate reader*. Instrumen ini mampu mengukur kekeruhan kultur secara numerik berdasarkan nilai absorbansi, sehingga perbedaan pertumbuhan bakteri dapat dideteksi dengan lebih sensitif dibandingkan

pengamatan visual (Wiegand dkk., 2008). Selain itu, nilai absorbansi pada perlakuan dapat dikoreksi terhadap kontrol media dan kontrol ekstrak, sehingga pengaruh warna alami ekstrak bunga telang dapat diminimalkan (Cos dkk., 2006). Dengan demikian, penggunaan *microplate reader* memungkinkan penentuan KHM yang lebih akurat dan objektif.

4.2.2 Hasil Uji Kuantitatif menggunakan *Microplate Reader*

Untuk memperoleh hasil yang lebih akurat, dilakkan pembacaan absorbansi larutan secara kuantitatif, pembacaan dapat dibantu dengan *microplate reader* yang mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 600 nm (CLSI, 2024; Forde dkk., 2024). Hasil observasi dengan pengamatan visual selaras dengan data absorbansi dan persentase inhibisi yang diperoleh. Berdasarkan hasil pembacaan menggunakan *microplate reader*, nilai absorbansi atau *Optical Density* (OD) yang diperoleh dari masing-masing perlakuan menunjukkan adanya variasi tingkat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* setelah pemberian kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Rerata persentase inhibisi pada konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; dan 3,125% berturut-turut sebesar 111,17%; 100,21%; 92,57%; dan 88,27%, sedangkan pada konsentrasi 1,5625% menurun menjadi 42,58%. Berdasarkan kriteria MIC, konsentrasi terendah yang masih mampu menghasilkan inhibisi $\geq 50\%$ adalah 3,125%, sehingga ditetapkan sebagai nilai KHM kombinasi ekstrak terhadap *Shigella dysenteriae*. Nilai absorbansi pada tiap perlakuan ada pada tabel berikut:

Tabel 4.3 Nilai *Optical Density* (OD) uji konsentrasi hambat minimum (KHM) metode mikrodilusi

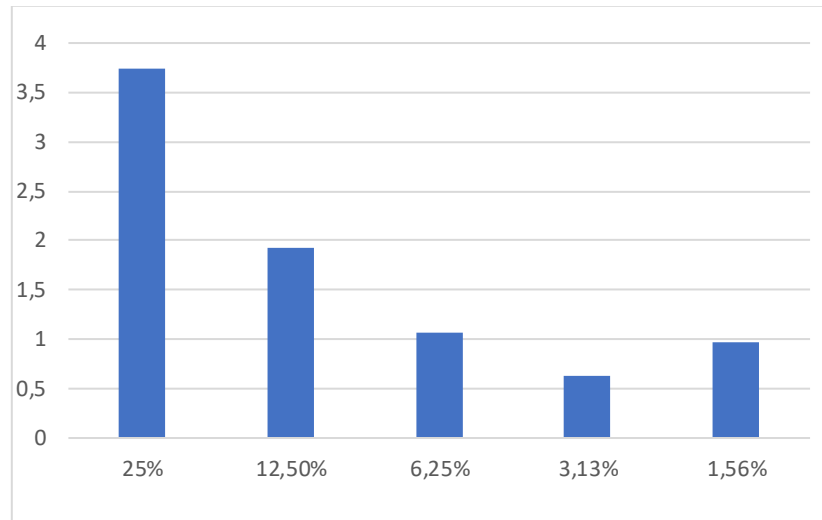
Kelompok	Konsentrasi ekstrak (%)	OD Rata-rata	OD Terkoreksi Rata-rata	Persentase Inhibisi (%)
Kontrol Media	—	0,125	—	—
Kontrol Media + Ekstrak	25	3,867	—	—
Kontrol Media + Bakteri	—	1,399	—	—
Kontrol Media + Ciprofloxacin	—	0,000	—	—
	25	3,734	-0,133	111,17
Perlakuan Mikrodilusi	12,5	1,922	-0,011	100,21
	6,25	1,060	0,094	92,57
	3,125	0,624	0,141	88,27
	1,5625	0,971	0,729	42,58

Keterangan:

1. OD terkoreksi diperoleh dari pengurangan OD perlakuan dengan OD kontrol media dan ekstrak untuk menghilangkan pengaruh warna ekstrak terhadap pembacaan absorbansi.
2. Persentase inhibisi dihitung berdasarkan perbandingan OD terkoreksi perlakuan terhadap kontrol pertumbuhan (kontrol media dan bakteri).

Nilai densitas optik (OD) terkoreksi menunjukkan hasil pengurangan pengaruh warna alami ekstrak terhadap pembacaan OD, sehingga mencerminkan aktivitas antibakteri yang sesungguhnya. Berdasarkan data, konsentrasi ekstrak 25% menghasilkan OD terkoreksi paling rendah (-0,133) dengan persentase inhibisi tertinggi (111,17%), menandakan kemampuan maksimum dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. Seiring penurunan konsentrasi ekstrak menjadi 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,5625%, nilai OD terkoreksi meningkat (mendekati positif) dan persentase inhibisi menurun berturut-turut menjadi 100,21%, 92,57%, 88,27%, dan 42,58%, dari sini dapat dilihat adanya penurunan daya hambat secara bertahap. Pola penurunan inhibisi yang berbanding lurus dengan penurunan konsentrasi ini sejalan dengan prinsip umum hubungan dosis-respons dalam pengujian antimikroba, di mana semakin rendah konsentrasi

bahan uji maka semakin berkurang efek penghambatannya terhadap pertumbuhan bakteri (Wiegand dkk., 2008).



Gambar 4.3 Grafik *Optical Density* (OD) uji konsentrasi hambat minimum (KHM) kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* dengan metode mikrodilusi

Nilai inhibisi yang melebihi 100% pada konsentrasi tinggi terjadi karena OD terkoreksi bernilai negatif akibat overkoreksi *blank*. Nilai OD dalam penelitian ini tidak secara langsung digunakan untuk menentukan tingkat penghambatan bakteri karena adanya potensi interferensi warna dari ekstrak yang diuji. Permasalahan ini umum dijumpai dalam pengujian ekstrak tumbuhan kasar menggunakan metode mikrodilusi, di mana kandungan pigmen alami dapat memengaruhi pembacaan absorbansi secara spektrofotometri (Cos dkk., 2006). Oleh karena itu, nilai absorbansi setiap perlakuan dikoreksi terhadap kontrol media dan kontrol ekstrak untuk memperoleh nilai OD yang lebih akurat dalam merepresentasikan pertumbuhan bakteri. Koreksi absorbansi dilakukan untuk meminimalkan pengaruh warna alami kombinasi ekstrak terhadap pembacaan *optical density* (OD). Ekstrak bunga telang diketahui mengandung antosianin dan

senyawa flavonoid berpigmen yang dapat meningkatkan nilai absorbansi meskipun pertumbuhan bakteri sebenarnya telah terhambat (Febrianti dkk., 2022). Oleh karena itu, OD *blank* proporsional dihitung terlebih dahulu berdasarkan absorbansi kontrol ekstrak, kemudian dikurangkan dari OD sampel sehingga diperoleh nilai OD terkoreksi yang lebih mencerminkan pertumbuhan bakteri sebenarnya. Pendekatan koreksi absorbansi seperti ini umum diterapkan dalam pengujian mikrodilusi menggunakan ekstrak tumbuhan berwarna guna menghindari interpretasi yang keliru akibat interferensi pigmen terhadap pembacaan spektrofotometri (Klančnik dkk., 2010).

Nilai KHM ini tergolong relatif rendah apabila dibandingkan dengan nilai KHM masing-masing ekstrak tunggal yang telah dilaporkan dalam berbagai penelitian sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Nabila dkk. (2022) melaporkan bahwa KHM ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea*) terhadap bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* berada pada konsentrasi 10%, sedangkan terhadap *Bacillus cereus* mencapai 30%. Sementara itu, El Gharib dkk. (2023) menyebutkan bahwa KHM ekstrak bunga telang terhadap *Streptococcus sanguinis* diperoleh pada konsentrasi 25%, dan Amalia (2025) melaporkan KHM ekstrak etanol bunga telang terhadap *Klebsiella pneumoniae* baru tercapai pada konsentrasi 14–15%. Dengan demikian, KHM kombinasi ekstrak pada penelitian ini yang hanya sebesar 3,125% jauh lebih rendah dibandingkan KHM ekstrak bunga telang secara tunggal, yang berkisar antara 10% hingga 30% tergantung jenis bakteri uji yang digunakan.

Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sebesar 3,125% yang diperoleh pada penelitian ini tergolong relatif rendah apabila dibandingkan dengan

nilai KHM ekstrak tunggal bunga telang maupun jeruk nipis yang telah dilaporkan pada berbagai penelitian sebelumnya. Poejiani (2022) melaporkan bahwa perasan buah jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) memiliki nilai KHM sebesar 10% terhadap *Acinetobacter baumannii*, yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat sebesar 7,74 mm. Selain itu, Ugwu et al. (2018) melaporkan bahwa ekstrak buah jeruk nipis mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi yang relatif rendah, yaitu berkisar antara 0,156%–0,76%, sedangkan terhadap *Escherichia coli* diperlukan konsentrasi yang jauh lebih tinggi, yaitu sekitar 20%. Perbedaan sensitivitas tersebut diduga berkaitan dengan struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih kompleks sehingga lebih sulit ditembus oleh senyawa antibakteri. Sementara itu, El Gharib et al. (2023) melaporkan bahwa ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) menunjukkan nilai KHM sebesar 25% terhadap *Streptococcus sanguinis*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan kombinasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini. Dengan demikian, kombinasi ekstrak bunga telang dan jeruk nipis berpotensi menghasilkan efek antibakteri yang lebih efektif terhadap *Shigella dysenteriae* dibandingkan penggunaan ekstrak tunggal.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan serta analisis data yang diperoleh mengenai aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae*, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) pada konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*. Perlakuan P1 dengan perbandingan ekstrak *Clitoria ternatea* : *Citrus aurantiifolia* sebesar 25% : 75% menunjukkan aktivitas antibakteri paling baik di antara seluruh perlakuan, dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 7,5 mm yang termasuk kategori daya hambat sedang. Sementara itu, perlakuan P2 (50% : 50%), P3 (75% : 25%), P4 (100% *Clitoria ternatea*), dan P5 (100% *Citrus aurantiifolia*) menghasilkan rata-rata diameter zona hambat berturut-turut sebesar 2,8 mm, 3,0 mm, 3,8 mm, dan 4,8 mm, yang seluruhnya termasuk kategori daya hambat lemah.
2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kombinasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) terhadap *Shigella dysenteriae* diperoleh pada konsentrasi 3,125% yaitu konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri berdasarkan hasil uji kualitatif dengan pengamatan visual serta uji kuantitatif menggunakan pengukuran absorbansi *microplate reader*.

5.2 Saran

Setelah melakukan penelitian ini, diharapkan pada penelitian selanjutnya perlu memperhatikan beberapa aspek metodologis agar hasil yang diperoleh lebih valid. Saran perbaikan dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Melakukan inokulasi suspensi bakteri yang telah distandardisasi menggunakan standar McFarland 0,5 pada media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) untuk memastikan pertumbuhan bakteri berlangsung normal dan merata, tidak terlalu padat maupun terlalu jarang, serta untuk memverifikasi bahwa suspensi bakteri bebas dari kontaminasi mikroorganisme lain.
2. Menyiapkan *blank control* (media + ekstrak tanpa bakteri) untuk setiap kolom mikropate perlakuan (kolom 1–5), sehingga pengaruh warna alami ekstrak pada setiap tingkat konsentrasi dapat dikoreksi secara lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agatha, T., dkk. (2021). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Prevotella intermedia*. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*.
- Agatha, V., Kurnia, C., & Sugiaman, V. K. (2021). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Prevotella intermedia*. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 33(2), 167–173. <https://doi.org/10.24198/jkg.v33i2.33226>
- Alptari Br Karo, M., Ferdinanda, F., Natali, O., & Nasution, S. W. (2025). Uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. *Biospecies*, 14(1), 32–35. Universitas Prima Indonesia.
- Al-Qardhawi, Y. (2001). *Ri'ayat al-Bi'ah fi Syari'at al-Islam*. Dar al-Syuruq — manusia sebagai khalifah penjaga alam
- Alu Syaikh, A. bin M. (2004). Tafsir Ibnu Katsir Jilid 1: Al-Fatihah – Al-Baqarah (M. Abdul Ghoffar E.M., Penerjemah). Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Amalia, E. T. (2025). Pengujian konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *The Journal of Pharmacy*, 2(2), 75–87.
- Angelina, R., & Syuhada, F. A. (2023). Manfaat Bunga Telang Dan Pembudidayaan Di Cv. Faruq Farm (*Benefits of Telang Flower and Cultivation At Cv. Faruq Farm*). *J. Agriness*, 1(1), 1-7.
- Anggarani, dkk. (2023). Literature Review of Antioxidant Activity of Several Types of Onions and Its Potensial as Health Supplements. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 12 (1): 104115
- Anggrahini, S., dkk. (2023). Optimalisasi formula minuman olahan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan parameter karakteristik produk. *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 18(1), 45–53.
- Asmah, N., Aslan, S., & Prawira, M. D. (2024). Efektivitas ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. *Indonesian Journal of Public Health*, 2(1), 48–53. <https://jurnal.academiacenter.org/IJOH/article/view/290>
- Auda, J. (2008). *Maqasid al-Shariah as Philosophy of Islamic Law*. IIIT — dimensi hifzh al-nafs dan hifzh al-mal
- Azhar, dkk. (2024). Potensi antibakteri *Sansevieria trifasciata* Prain. menggunakan mikrodilusi dan analisis kemometrik. *BioWallacea: Jurnal Penelitian Biologi*.
- Batra, S. (2018). *Morphology and culture characteristics of Shigella dysenteriae* (Sh. dysenteriae). Paramedics World. <https://paramedicsworld.com/morphology-culture-characteristics-of-shigella-dysenteriae/>
- Baumgart S, Phan T, McKew G. Epidemiology and antimicrobial resistance rates for *Shigella* species in a resource-rich setting. *Pathology*. (2025) ;57(1):94-99. doi: 10.1016/j.pathol.2024.07.004. Epub 2024 Sep 25. PMID: 39455321.
- Besan, E. J., Rahmawati, I., & Saptarini, O. (2023). Aktivitas antibiofilm ekstrak dan fraksi-fraksi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap

- Staphylococcus aureus* [Antibiofilm activity of butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.) extract and fractions against *Staphylococcus aureus*]. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, 20(1), 1–11.
- Burel, C., Kala, A., & Purevdorj-Gage, L. (2021). Impact of pH on citric acid antimicrobial activity against Gram-negative bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 72(3), 332–340.
- c Correlation between antimicrobial activity values and total phenolic content/antioxidant activity in *Rubus idaeus* L. *Plants*, 13(4), 504. <https://doi.org/10.3390/plants13040504> ([doi.org in Bing](#))
- Cao, M., Wang, W., Zhang, L., Liu, G., Zhou, X., Li, B., Shi, Y., Zhu, Z., & Zhang, J. (2021). Epidemic and molecular characterization of fluoroquinolone-resistant *Shigella dysenteriae* 1 isolates from calves with diarrhea. *BMC Microbiology*, 21(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-02050-9>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2023, January 10). *About Shigella infection*. U.S. Department of Health & Human Services. <https://www.cdc.gov/shigella/about/index.html>
- Chamidah, N., dkk. (2017). Kajian metode ekstraksi konvensional untuk senyawa fenolik dari bahan alam. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 28(1), 1–10.
- Chen, X., Gao, Q., Liao, S., Zou, Y., Yan, J., & Li, Q. (2022). Co-pigmentation mechanism and thermal reaction kinetics of mulberry anthocyanins with different phenolic acids. *Foods*, 11(23), 3806. <https://doi.org/10.3390/foods11233806>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically* (CLSI standard M07, 12th ed.). CLSI. <https://clsi.org/shop/standards/m07/>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2024). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (CLSI supplement M100, 34th ed.). CLSI. <https://clsi.org/shop/standards/m100/>
- Cos, P., De Bruyne, T., Hermans, N., Apers, D., Pieters, L., & Vlietinck, A. J. (2006). Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, 106(3), 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.003>
- Cos, P., Vlietinck, A. J., Vanden Berghe, D., & Maes, L. (2006). Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro proof-of-concept. *Journal of Ethnopharmacology*, 106(3), 290–302. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.003>
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Darmawati, S., Prasetyo, A., & Setiawati, N. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* ESBL. *Jurnal Jamu Indonesia*, 7(2), 72–79.
- Dong, Y., Yang, C., Zhong, W., Shu, Y., Zhang, Y., & Yang, D. (2022). Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin from *Lycium ruthenicum* Murr. *Frontiers in Microbiology*, 13, 974602. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.974602>

- Dwiyanto, A., Suryani, T., & Rahmawati, R. (2021). Profil Resistensi *Shigella dysenteriae* di Rumah Sakit Rujukan di Indonesia: Studi Kasus dan Implikasinya. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 15(2), 123130.
- Effendi, F., Roswiem, A. P., & Stefani, E. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta penentuan KHM dan KBM. *Jurnal Fitofarmaka*, Universitas Pakuan, 1(2), 119–126. Link.
- El Gharib, Y., Nosartika, I., & Hapsari, R. (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Berbagai Konsentrasi pada Bakteri *Streptococcus sanguinis*. Skripsi. Universitas Diponegoro.
- El Gharib, Y., Nosartika, I., & Hapsari, R. (2023). Uji efektivitas antibakteri ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) berbagai konsentrasi pada bakteri *Streptococcus sanguinis* [Skripsi]. Universitas Diponegoro.
- EUCAST. (2003) *Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution*. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(8), ix–xv.
- EUCAST. (2003). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(8), ix–xv.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2024). *Clinical breakpoint tables v.14.0*. EUCAST. https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
- Fauziyah, R., Widyasanti, A., & Rosalinda S. (2022). Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Sisa Pelarut dan Rendemen Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Kimia Padjadjaran*. 1: 18-25
- Febrianti, dkk. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Bakteri Patogen. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, Universitas Sebelas Maret. <https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/article/view/52508>
- Febrianti, dkk. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri patogen. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. <https://doi.org/10.20961/alchemy.18.2.52508>
- Febrianti, F., Widyasanti, A., & Nurhasanah, S. (2023). Uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga telang terhadap bakteri patogen. *ALCHEMY: Jurnal Penelitian Kimia*, 19(1), 45–52. <https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/article/download/52508/37040>
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Shabrina, A. (2020). Aktivitas anti bakteri daun sirih: Uji ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101–108. <https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>
- Forde, B. M., Schreiber, H. L., Dohrn, C. L., Walker, J. N., Zimmern, P. E., & Hultgren, S. J. (2024). Antibiotic susceptibility testing using minimum inhibitory concentration (MIC) assays. *npj Antimicrobials and Resistance*, 2(1), 51. <https://doi.org/10.1038/s44259-024-00051-6>
- Fraga-Corral, M., Otero, P., Echave, J., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Jarboui, A., Nuñez-Estevez, B., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2022). Naringenin and its derivatives — health-promoting phytobiotic against resistant bacteria and fungi in humans. *Antibiotics*, 11(11), 1628.

- Fu, X., Wu, Q., Wang, J., Chen, Y., Zhu, G., & Zhu, Z. (2021). Spectral characteristic, storage stability and antioxidant properties of anthocyanin extracts from flowers of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.). *Molecules*, 26(22), 7000. <https://doi.org/10.3390/molecules26227000>
- Giyatmi, S., & Nurhayati, E. (2024). Evaluasi sensori dan aktivitas antioksidan minuman fungsional berbasis bunga telang (*Clitoria ternatea*) dan kulit jeruk lemon. *Jurnal Teknologi Pangan dan Kesehatan*, 6(1), 1–10.
- Hahn, D. (2020). *Natural antioxidant and anti-inflammatory compounds in foodstuff and medicinal herbs*. *Antioxidants*, 9(12), 1191. <https://doi.org/10.3390/antiox9121191>
- Hasanah, U., Yulianti, M., & Ramdhini, R.N. (2022). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Metanol Daun Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap *Escherichia coli* ESBL. *Jurnal Jamu Indonesia*, 7(2), 72–79.
- Hmar, E. B. L., Paul, S., & Sharma, H. K. (2024). The role of *Shigella* spp. in propagating bacillary dysentery in humans and the prominence of nanotechnology in disease prevention. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00676-4>
- Ibnu Katsir. (2018). *Tafsir Ibnu Katsir* (Jilid 3). Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Imam, U. A., & Susan, O. G. (2023). Determination of antimicrobial activities of crude extract (juice) of *Citrus aurantifolia* (Lemun Tsami) on some selected bacteria of different Gram reaction (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). *Sokoto Journal of Medical Laboratory Science*, 9(4), 301–309.
- Indriani, dkk. (2023). Uji Efektivitas Daun Angsana (*Pterocarpus Indicus*) Sebagai Anti Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*. Vol. 14 No. 2
- International Organization for Standardization. (2019). *Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices — Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria* (ISO 20776-1:2019). ISO. <https://www.iso.org/standard/70464.html>
- Jayanti, M., Prabowo, S., Candra, K. P., & Emmawati A. (2025). Optimasi Aktivitas Antioksidan Minuman Herbal Celup Berbahan Bunga Telang dan Serai. *Jurnal Mutu Pangan: Indonesian Journal of Food Quality*, 12(1), 1-13. <https://doi.org/10.29244/jmpi.2025.12.1.1>
- Jeffrey J, Satari MH, Kurnia D, dan Sudigdoadi S, 2020. Inhibition of Streptococcus mutans Growth Induced by the Extract of *Citrus aurantifolia* Peel. *Journal of International Dental and Medical Research*; 13(1): 122–127
- 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, 1–12.
- 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), 15321. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19146-z>
- Ji, Z., Deng, W., Chen, D., Liu, Z., Shen, Y., Dai, J., & Dai, B. (2024). Antibacterial and antibiofilm properties of hesperidin-based carbon dots and application for food preservation. *Food Control*, 165, 110686.

- Keith G. Mansfield, James G. Fox. (2019) Chapter 16 - *Bacterial Diseases: The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research*. Academic Press. 265-287,
- Kementerian Agama Republik Indonesia. *Surat An-Nahl ayat 1–128*. Quran Kemenag, <https://quran.kemenag.go.id/quran/perayat/surah/16?from=1&to=128>
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. (2024). *Budidaya Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia)*. Direktorat Jenderal Hortikultura. https://hortikultura.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2024/11/Budidaya-Jeruk-Nipis-Citrus-aurantifolia_watermark_compressed.pdf
- Khadse, V., Patwardhan, M., & Joshi, C. (2008). Differential expression of *ompC* and *ompF* in multidrug-resistant *Shigella dysenteriae* and *Shigella flexneri* by aqueous extract of *Aegle marmelos*, altering its susceptibility toward β -lactam antibiotics. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 61(3), 321–328.
- Khairunnisa, K., Ramadhani, Y., & Sapada, I. E. (2025). Studi efektivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb) terhadap patogen *Shigella dysenteriae*. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 5(1). e-ISSN: 2774-9967.
- Khairunnisa, Y., Ramadhani, Y., & Sapada, I. E. (2025). Studi efektivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb) terhadap patogen *Shigella dysenteriae* [Study on the antibacterial effectiveness of ethanol extract of bangle rhizome (*Zingiber purpureum* Roxb) against *Shigella dysenteriae* pathogen]. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 5(1). DOI: <https://doi.org/10.14710/genres.v5i1.25307>
- Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., & Možina, S. S. (2010). Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81(2), 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.02.007>
- Kumar, A., Singh, R., & Sharma, P. (2023). Synergistic antibacterial effects of *Clitoria ternatea* and *Citrus aurantifolia* extracts against *Shigella dysenteriae*. *Journal of Ethnopharmacology*, 312, 116456.
- Lesbatta, K. J., Umanailo, A. R., Lumintang, V. I. A., Lermatan, M. D., Kuay, Y. A., Aponno, N. V., & Anggraeni, A. S. D. M. (2026). Uji *in silico* antibakteri senyawa aktif kuersetin daun binahong terhadap protein ClfB *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biosense: Jurnal Penelitian Biologi dan Terapannya*, 9(1), 360–372.
- Mellinia, A. B. K., Ferdinanda, F., Natali, O., & Nasution, S. W. (2021). Uji efektivitas daun kelor terhadap *Shigella dysenteriae* [The effectiveness of Moringa leaves against *Shigella dysenteriae*]. *Biospecies*, 14(1), 32–35. Universitas Prima Indonesia.
- Melton-Celsa, A. R. (2014). Shiga toxin (Stx) classification, structure, and function. *Microbiology Spectrum*, 2(3), EHEC-0024-2013. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ehec-0024-2013>
- Microbe Online. (2020). *Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC)*. Tersedia di:

- https://microbeonline.com/minimum-inhibitory-concentration-andminimum-bactericidal-concentration-mbc/?utm_source=copilot.com
- Mukhitasari, D. A. (2012). *Uji aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis (Citrus aurantifolia Swingle) terhadap pertumbuhan Shigella dysenteriae secara in vitro* [Skripsi]. Universitas Jember.
- Munawaroh, dkk. (2015). Kopigmentasi Dan Uji Stabilitas Warna Antosianin Dari Isolasi Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). prosiding
- Munira, M., & Nasir, M. (2023). *Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun kirinyuh (Chromolaena odorata) terhadap Staphylococcus aureus*. SAGO: Gizi dan Kesehatan, 4(2), 179–185. DOI: 10.30867/gikes.v4i2.1107
- Muslim, Imam Abul Husain. (2002). *Shahih Muslim*. Jakarta: Mustaqim.
- Nabila, F. S., Radhityaningtyas, D., Yurisna, V. C., Listyaningrum, F., & Aini, N. (2022). Potensi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai antibakteri pada produk pangan. *JITIPARI (Jurnal Ilmiah Teknologi dan Industri Pangan UNISRI)*, 7(1), 68–77.
- Neelanjana, P., & Cascella, M. (2023). Beta Lactam Antibiotics. <https://doi.org/https://wwwncbinlmnih>
- Neyaz, L. A., Alghamdi, H. S., Alghashmari, R. M., Alswat, S. S., Almaghrabi, R. O., Bazaid, F. S., Albarakaty, F. M., Elbanna, K., & Abulreesh, H. H. (2024). A comprehensive review on the current status of culture media for routine standardized isolation of *Salmonella* and *Shigella* spp. from contaminated food. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*
- Novriyanti, R., Putri, N. E. K., & Rijai, L. (2023). Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). *Molecular Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2(1), 15–22. <https://mpc.jurnalfamul.com/index.php/mpc/article/download/637/553/710>
- Okwu, D. E., & Emenike, I. N. (2006). Evaluation of the phytonutrients and vitamin content of citrus fruits. *African Journal of Biotechnology*, 5(2), 160–164.
- Pakbin, B. (2023). *Shigella dysenteriae*: karakteristik dan patogenesis. (sesuaikan dengan referensi Pakbin yang sudah ada di daftar pustakamu)
- Pakbin, B., Brück, W. M., & Brück, T. B. (2023). Molecular mechanisms of *Shigella* pathogenesis; recent advances. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2448. <https://doi.org/10.3390/ijms24032448>
- Parham, S., Kharazi, A. Z., Bakhsheshi-Rad, H. R., Nur, H., Ismail, A. F., Sharif, S., & Ramakrishna, S. (2020). *Antioxidant, antimicrobial and antiviral properties of herbal materials: A review*. *Molecules*, 25(21), 5122. <https://doi.org/10.3390/molecules25215122>
- Patel, D. K., Kumar, R., & Laloo, D. (2016). Natural medicines from plant source used for therapy of dysentery. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 118–126. <https://phcogrev.com/sites/default/files/PhcogRev-10-20-118.pdf>
- Periwi, R. B., Hasubllah, U. H., & Affandi, A. R. (2021). Copigmentation of Anthocyanin Extract from Parijoto Fruit (*Medinilla speciosa*) and Its Stability at Different Temperatures and Heating Durations. *Indonesian Food and Nutrition*. 18(2).
- Poejiani, S. (2022). Uji efektifitas perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) sebagai hand sanitizer alami terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri.

- Indonesian Journal of Laboratory*, 5(3), 112–117.
<https://doi.org/10.22146/ijl.v5i3.78708>
- Pratiwi, D., Suswati, I., & Abdullah, M. (2017). Efek antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro. *Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga*, 9(2), 110–115.
- Purba, E. C. (2020). *Kembang telang (Clitoria ternatea L.): Pemanfaatan dan bioaktivitas*. *EduMatSains: Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains*, 4(2), 111–124.
<https://doi.org/10.33541/edumatsains.v4i2.1377>
- Putri, R. N., Wahidah, S. N., Hosiyah, H., Al Hafidz, I. T., & Faisal, F. (2023). Uji daya hambat antimikroba secara difusi sumuran dan difusi paper disk. *Era Sains: Journal of Science, Engineering and Information Systems Research*, 1(4), 28–33.
- Rahayu, S., Vifta, R., & Susilo, J. (2021). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) menggunakan metode FRAP. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 1(2), 45–52.
<https://doi.org/10.14710/genres.v1i2.9836>
- Raihan, M. M., & Hossain, M. S. (2022). Isolation, identification and evaluation of antibiotic sensitivity and resistance of *Shigella dysenteriae* isolated from food, water and soil. *Journal of Microbiology and Sustainability*, 2(1), 1–10. <https://isciencepress.com/journals/index.php/jms/article/view/4/6>
- Ramadhani, dkk. (2024). Bioactive compounds in *Citrus aurantifolia* and their applications. *Journal of Food Science and Technology*, 61(4), 789–800. Link: <https://doi.org/10.1007/s13197-024-05890-1>
- Ramadhani, N. F., Sanjaya, R. A. A., Sitalaksmi, R. M., Ari, M. D. A., Nugraha, A. P., Irsan, S. N., Kharisma, V. D., & Noor, T. N. E. B. T. A. (2023). *Clitoria ternatea* Ethanol Extract Antibacterial and Anti-Inflammatory Ability Towards Peri-Implantitis Biomarkers: An and in Silico Study. *Journal of International Dental and Medical Research*, 16(3), 1038–1049.
- Ramdan, R., & Wulandari, R. (2023). Penetapan kadar antosianin ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea*) dengan metode differensial pH. *Pharmacy Genius*, 2(1).
- Ramli, R. M. (2020). The principle of natural resources management based on Maqasid Al-Shari'ah: A conceptual framework. *International Journal of Islamic Economics and Finance Research*, 3(1), 57–74.
<https://doi.org/10.53840/ijiefer12>
- Raza, A., Swati, & Tahseen, M. A. (2024). Pharmacological relevance of *Clitoria ternatea* (Aparajita): A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 13(5), 280–285.
<https://www.phytojournal.com/archives/2024/vol13issue5/PartH/13-5-98-280>
- Rimporok, A., Budiarmo, F., & Fatimawali. (2020). Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Tanaman Kaki Kuda (*Centella asiatica* L. Urban) sebagai Tumbuhan Obat Anti Tuberkulosis. *Jurnal Biomedik*, 12(1), 1–8. DOI: 10.35790/jbm.12.1.2020.27003

- Risna, R., dkk. (2022). Kurva pertumbuhan isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan itik lokal asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 24(1). <https://jpi.faterna.unand.ac.id/index.php/jpi/article/download/718/446>
- Rizkawati, M., & Rizkita, L. D. (2023). Potensi Aktivitas Antibakterial Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*). *Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.* 5 (1), 70-77. <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i1.1512>
- Rizkawati, M., & Rizkita, L.D. (2023). Potensi Aktivitas Antibakterial Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 5(1), 1–12.
- Sakit Siti Khodijah Sepanjang Sidoarjo Tahun 2019. *Proceeding Series*, 11–33.
- Salmiah, S., & Nainggolan, J. D. O. M. . (2024). Effectiveness of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea*) Extract Against Streptococcus Mutans Bacterial Growth In Vitro. *Jurnal Sehat Indonesia (JUSINDO)*, 7(1), 321–328. <https://doi.org/10.59141/jsi.v7i01.189>
- Sapkota, A. (2022, January 6). *Nutrient Agar – Principle, Composition, Preparation, Results, Uses.* Microbe Notes. <https://microbenotes.com/nutrient-agar-principle-composition-preparation-and-uses/>
- Sari, A. N., & Asri, M. T. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. *LenteraBio: Jurnal Pendidikan Biologi*, 11(3), 441–448. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/16490>
- Sari, N. P., & Hidayati, N. (2023). Karakterisasi dan penilaian variabilitas morfologi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) asal pulau berbeda di Indonesia. *Protanika: Journal of Tropical Agriculture*, 6(2), 76–83.
- Sartika, D., Novelni, R., & Atika Putri, V. (2020). Pola resistensi dan identifikasi bakteri penyebab diare pada feses pasien rawat inap di bangsal anak RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Scientia Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 10(1), 40–47.
- Schroeder, G. N., & Hilbi, H. (2008). Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: Controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(1), 134–156. <https://doi.org/10.1128/CMR.00032-07>
- Seyyedi-Mansour, S., Carpena, M., Donn, P., Garcia-Oliveira, P., Echave, J., Barciela, P., Fraga-Corral, M., Cassani, L., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2023). Profiling of phenolic compounds in citrus flowers and their biological activities. *Engineering Proceedings*, 48(1), 37. <https://doi.org/10.3390/CSAC2023-14895>
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah: Pesan, kesan, dan keserasian Al-Qur'an* (Vol. 1). Jakarta: Lentera Hati.
- Sholihatunnisa, K. F., & Ramadhania, Z. M. (2024). *Clitoria ternatea* L.: Bioactive compounds, antioxidant activity, and its potential as a natural UV-filter. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 5(2), 45–54. <https://jurnal.unpad.ac.id/ijbp/article/view/62017>
- Sholihatunnisa, K. F., & Ramadhania, Z. M. (2024). *Clitoria ternatea* L.: Bioactive compounds, antioxidant activity, and its potential as a natural UV-filter. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 4(2), 125–135.

- Silahi, M. (2023). Pemanfaatan *Citrus aurantifolia* (Christm. et Panz.) sebagai Bahan Pangan dan Obat serta Bioaktivitas *BIOCITY Journal of Pharmacy Bioscience and Clinical Community* 1(2): 73-80.
- Sisson, H. M., Fagerlund, R. D., Jackson, S. A., Briers, Y., Warring, S. L., & Fineran, P. C. (2024). Antibacterial synergy between a phage endolysin and citric acid against the Gram-negative kiwifruit pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 90, e01846-23. <https://doi.org/10.1128/aem.01846-23>
- Suarna, I. W., & Wijaya, I. M. A. S. (2021). [Antosianin ternatin bunga telang]. (konfirmasi jurnal lengkap diperlukan — sesuaikan dengan sumber primer yang digunakan).
- Tafroji, W., Margyaningsih, N. I., Khoeri, M. M., Paramaiswari, W. T., Winarti, Y., Salsabila, K., Maharani Putri, H. F., Siregar, N. C., Soebandrio, A., & Safari, D. (2022). Antibacterial activity of medicinal plants in Indonesia on *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS ONE*, 17(9), e0274174. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274174>
- Tim Ahli Tafsir di bawah pengawasan Syaikh Shafiyyurrahman al Mubarakfuri. (2018). *Shahih Tafsir Ibnu Katsir. Jilid V. Cet. XIV*. Jakarta : Pustaka Ibnu Katsir.
- Ulya, M., Isnanto, R., & Ulfa, N. (2019). Efek uji daya bunuh ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *B-Dent: Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*.
- Wang, X., Yao, X., Zhu, Z., Tang, T., Dai, K., Sadovskaya, I., Flahaut, S., & Jabbouri, S. (2018). Modification of membrane properties and fatty acids biosynthesis-related genes in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: Implications for the antibacterial mechanism of naringenin. *Biochimica et Biophysica Acta — Biomembranes*, 1860(2), 481–490.
- Widowati, W., Wargasetia, T. L., Zakaria, T. M., Marthania, M., Akbar, R. A. T. P. P., Gunadi, M. S., Halim, N., & Santiadi, S. (2022). Antioxidant activity of TEMON (*Clitoria ternatea* and *Citrus* sp.) as an infused herbal tea. *Majalah Obat Tradisional*, 27(1). <https://doi.org/10.22146/mot.71628>
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
- Wilapangga, A., dkk. (2019). Analisis antibakteri metode agar cakram dan uji toksisitas menggunakan BSLT dari ekstrak metanol daun salam (*Eugenia polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*.
- Williams, P. C. M., & Berkley, J. A. (2018). Guidelines for the treatment of dysentery (shigellosis): a systematic review of the evidence. *Paediatrics and International Child Health*, 38(Suppl 1), S50–S65. <https://doi.org/10.1080/20469047.2017.1409454end>
- Yan, Y., Xia, X., Fatima, A., Zhang, L., Yuan, G., Lian, F., & Wang, Y. (2024). Antibacterial activity and mechanisms of plant flavonoids against Gram-

- negative bacteria based on the antibacterial statistical model. *Pharmaceuticals*, 17(3), 292.
- Yulianti, W., Ayuningtiyas, G., Martini, R., & Resmeiliana, I. (2020). *Pengaruh metode ekstraksi dan polaritas pelarut terhadap kadar fenolik total daun kersen (Muntingia calabura L)*. Jurnal Sains dan Teknologi, Institut Pertanian Bogor. Link
- Zhang, D., Mabberley, D.J. (2008). Citrus. Dalam: Wu, Z.Y., Raven P.H., Hong, D.Y. (eds). *Flora of China vol. 11 (Oxalidaceae through Aceraceae)*. Beijing: Sci Pr dan St. Louis: Missouri Bot Gard Pr. pp 89-96.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil uji antibakteri

Sampel Uji	Replikasi (mm)			Diameter Zona Hambat (mm)	
	R1	R2	R2	Rata-rata	Kategori
P1	8,5	7	7	7,5	Sedang
P2	3	3	2,5	2,8	Lemah
P3	3	3,5	2,5	3	Lemah
P4	4	3,5	4	3,8	Lemah
P5	4,5	5	5	4,8	Lemah
Kontrol (+) Ciprofloxacin	26	22,5	27,5	25	Kuat
Kontrol (-) Asam Askorbat	0	0	0	0	Tidak ada
Kontrol (-) DMSO 1%	0	0	0	0	Tidak ada

Lampiran 2. Hasil konsentrasi hambat minimum

A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
3,709	1,969	1,006	0,663	0,821	0,000	0	0	0,121	3,931	1,315	0
C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
4,000	1,858	1,097	0,526	1,055	0,000	0	0	0,114	4,000	1,563	0
E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
3,493	1,939	1,078	0,683	1,037	0,000	0	0	0,140	3,669	1,319	0

Konsentrasi (%)	OD Terkoreksi Rata-rata	SD OD Terkoreksi	% Inhibisi Rata-rata	SD % Inhibisi
25	-0,133	0,117	111,17	9,85
12,5	-0,011	0,124	100,21	9,34
6,25	0,094	0,069	92,57	5,88
3,125	0,141	0,103	88,27	8,92
1,5625	0,729	0,133	42,58	10,29

Lampiran 3. hasil statistik menggunakan SPSS 2.6

Tests of Normality							
	PERLAKUAN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DIAMETER	1:3	.385	3	.	.750	3	.000
	1:1	.385	3	.	.750	3	.000
	3:1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	1:0	.250	4	.	.945	4	.683
	0:1	.	2	.			
	K+	.	3	.	.	3	.
	K-	.	3	.	.	3	.
	K-	.269	3	.	.949	3	.567

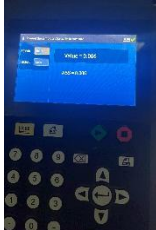
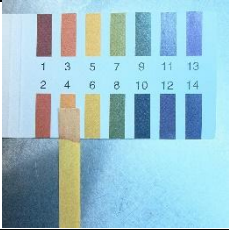
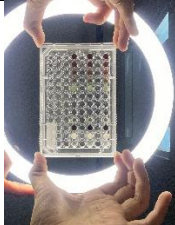
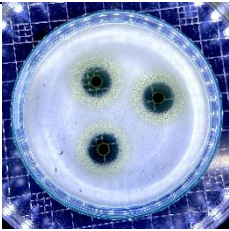
a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances					
DIAMETER	Levene Statistic				
	Based on Mean	6.205	7	16	.001
	Based on Median	1.766	7	16	.164
	Based on Median and with adjusted df	1.766	7	3.372	.328
	Based on trimmed mean	5.766	7	16	.002

ANOVA					
DIAMETER					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1419.000	7	202.714	204.848	.000
Within Groups	15.833	16	.990		
Total	1434.833	23			

Test Statistics ^{a,b}	
DIAMETER	
Kruskal-Wallis H	22.463
df	7
Asymp. Sig.	.002

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

		
Ekstraksi sampel	Standarisasi suspensi bakteri spektrofotometer	Inokulasi bakteri
		
Pemnyamaan kontrol asam askorbat	Inkubasi bakteri di suhu 37c	Pembuatan media
		
Pembuatan konsentrasi ekstrak	Penggojokan ekstrak dengan shaker	Pengamatan visual uji konsentrasi hambat minimum
		
Pengamatan hasil uji antibakteri		



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

Form Checklist Plagiasi

Nama : Rizki Sri Lestari
 NIM : 220602110054
 Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Shigella Dysenteriae*
 Penelitian secara *in Vitro*.

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	100%	



Mengetahui,
 Ketua Program Studi Biologi

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



JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 220602110054
Nama : RIZKI SRI LESTARI
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*) DAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae* SECARA IN VITRO

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	17 September 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan Judul dan BAB I	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
2	22 September 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Revisi BAB 1	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
3	23 September 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan dan Revisi BAB I	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
4	29 September 2025	MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si	Bimbingan Integrasi BAB II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
5	02 Oktober 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan BAB III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
6	07 Oktober 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan dan Revisi BAB I dan BAB II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
7	15 Oktober 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan dan Revisi BAB II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	20 Oktober 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan BAB III	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	23 Oktober 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan BAB III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	29 Oktober 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan dan Revisi BAB II - III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	03 November 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Revisi BAB III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	05 November 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan Revisi BAB III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
13	12 November 2025	MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si	Bimbingan dan Revisi Integrasi	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
14	12 November 2025	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Revisi Proposal BAB I - III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
15	05 Mei 2026	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan Hasil Penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
16	12 Mei 2026	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan penulisan BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
17	20 Mei 2026	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Revisi BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
18	25 Mei 2026	MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si	Bimbingan Integrasi BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

19	02 Juni 2026	FITRIYAH, S.Si., M.Si	Bimbingan kepenulisan skripsi	Genap 2026/2027	Sudah Dikoreksi
20	03 Juni 2026	MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si	Revisi integrasi skripsi bab 4	Genap 2026/2027	Sudah Dikoreksi
21	04 Juni 2026	MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si	Fiksasi integrasi bab 1-4	Genap 2026/2027	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si



Malang, _____
Dosen Pembimbing 1

FITRIYAH, S.Si., M.Si