

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI DARI
BONGGOL PISANG KEPOK (*Musa balbisiana* Colla.) TERHADAP
Escherchia coli ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*)**

Antibacterial Activity of Etanol Extract of Kepok Banana Sucker
Fraction Against ESBL *Escherchia coli*

SKRIPSI



Oleh :

SARAS OKTAVIANTY AYU PUSPITA

4161034

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA**

2020

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI DARI
BONGGOL PISANG KEPOK (*Musa balbisiana* Colla.) TERHADAP
Escherchia coli ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*)**

Antibacterial Activity of Etanol Extract of Kepok Banana Sucker
Fraction Against ESBL *Escherchia coli*

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana
Farmasi (S.Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu
Kesehatan Nasional di Surakarta**

Oleh :

SARAS OKTAVIANTY AYU PUSPITA

4161034

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA**

2020

PENGESAHAN SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI DARI
BONGGOL PISANG KEPOK (*Musa balbisiana* Colla.) TERHADAP *Escherchia*
coli ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*)

(Antibacterial Activity of Ethanol Extract and Fraction of Kepok
Banana Sucker Against ESBL *Escherchia coli*)

Oleh :

SARAS OKTAVIANTY AYU PUSPITA

4161034

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal : 16 September 2020

Pembimbing Utama



apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M. Sc.

Mengetahui,

Program Studi S1 Farmasi

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Ketua Program Studi,



apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc

Pembimbing Pendamping

Ardy Prian Nirwana, S.Pd. Bio., M.Si.

Tim Penguji

Ketua : apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc

Anggota :

1. apt. Diah Pratimasari, M.Farm
2. apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M. Sc.
3. Ardy Prian Nirwana, S.Pd. Bio., M.Si.

1.

2.

3.

PERSEMBAHAN

Apa yang kita pikirkan menentukan apa yang akan terjadi pada kita. Jadi kita ingin mengubah hidup, kita perlu sedikit mengubah pikiran kita.

(Wayne Dyer)

Kupersembahkan kepada Allah SWT atas segala Nikmat, Rahmat serta Hidayah-Nya sehingga memberikan kemudahan dan kelancaran dalam penyusunan skripsi serta Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan umat Muslim dalam beribadah kepada Allah SWT Papah dan Mamah tercinta yang selalu menyebut nama saya dalam setiap doanya, selalu memberikan inspirasi, motivasi, dan sumber daya dalam mengerjakan skripsi Kakak tercinta dan keluarga besar yang selalu memberi semangat dan selalu memberi dukungan yang terbaik untuk menyelesaikan skripsi Sahabat-sahabat ku Indraningsih, Marlina, Yachinta, Shintya, Debby, Yuli yang selalu memberikan semangat dan doa Teman-teman angkatan tahun 2016 yang telah menemani berjuang

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kersarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau di terbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis di acu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 16 September 2020



Saras Oktaviany Ayu Puspita

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat menyelesaikan jenjang pendidikan S1 Farmasi. Penyusun skripsi ini didasarkan penelitian yang tidak lepas dari bimbingan doa dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. apt. Hartono, S. Far., M.Si selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi.
3. apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc dan Ardy Prian Nirwana, S.Pd. Bio., M.Si selaku pembimbing yang telah memberikan masukan serta membantu penulisan dalam penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini.
4. apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc dan apt. Diah Pratimasari, M.Farm selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Kedua orang tua dan semua keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan semangat bagi penulisan sehingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Sahabat serta rekan-rekan mahasiswa Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi sebagai salah satu syarat menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

Kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan untuk pengembangan penelitian selanjutnya. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang membacanya. Terima kasih.

Surakarta, 13 November 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
INTI SARI	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Pisang Kepok.....	4
1. Deskripsi tanaman	4

2. Morfologi.....	5
3. Kandungan kimia.....	5
4. Khasiat dan kegunaan.....	6
B. Simplisia.....	7
C. Metode Penyarian.....	8
D. <i>Escherchia coli</i>	10
E. Chloramphenicol.....	12
F. Aktivitas Antibakteri.....	13
G. Metode Difusi.....	15
H. Landasan Teori.....	17
I. Kerangka Konsep.....	19
J. Hipotesis.....	20
BAB III. METODE PENELITIAN	21
A. Desain Penelitian.....	21
B. Sampel.....	21
C. Variabel Penelitian.....	21
D. Definisi Operasional Variabel Utama.....	22
E. Alat dan Bahan.....	23
F. Jalannya Penelitian.....	24
G. Analisis Data.....	32
H. Alur Penelitian.....	34
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Determinasi.....	37

B. Preparasi Sampel	37
C. Penapisan Fitokimia	41
D. Uji Karakterisasi Bakteri <i>Escherchia coli</i> ESBL	46
E. Uji Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air	53
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	61
A. Kesimpulan	61
B. Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN.....	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bonggol Pisang Kepok.....	4
Gambar 2. Bagan Kerangka Pikir	19
Gambar 3. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol dan Fraksinasi Ekstrak Bonggol Pisang Kepok	34
Gambar 4. Skema Uji Aktivitas Antibakteri	35
Gambar 5. Skema Pengujian Aktivitas Antibakteri Bonggol Pisang Kepok Terhadap Bakteri <i>Escherchia coli</i> ESBL Secara Difusi	36
Gambar 6. Reaksi Alkaloid dengan Mayer	42
Gambar 7. Reaksi Alkaloid dengan Dragendroft.....	42
Gambar 8. Reaksi Flavonoid serbuk Mg.....	43
Gambar 9. Reaksi Hidrolisis Saponin dengan Air	44
Gambar 10. Reaksi Reaksi Steroid dan Terpenoid dengan Reagen Lieberman- Buchard.....	45
Gambar 11. Reaksi Tanin dengan $FeCl_3$	46
Gambar 12. Hasil Pengecatan Bakteri <i>Escherchia coli</i> ESBL.....	47
Gambar 13. Koloni Bakteri Pada Media <i>MacConkey</i>	48
Gambar 14. Hasil Uji Biokimia <i>Escherchia coli</i> ESBL.....	49
Gambar 15. Konfirmasi Bakteri ESBL	52
Gambar 16. Grafik Uji Aktivitas Antibakteri Zona Radikal Ekstrak, Fraksi, Kontrol Negatif, Chloramphenicol, Ceftazidine, Cefotaxime	56

Gambar 17. Grafik Uji Aktivitas Antibakteri Zona Irradikal Ekstrak, Fraksi,
Kontrol Negatif, Chloramphenicol, Ceftazidine, Cefotaxime..... 57

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Senyawa Kimia Bonggol Pisang.....	6
Tabel 2. Standar Uji Sensibilitas Antimikroba	32
Tabel 3. Hasil Rendemen Fraksi N-heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air	41
Tabel 4. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Bonggol Pisang.....	41
Tabel 5. Hasil Uji Biokimia	49
Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Bonggol Pisang Kepok Zona Radikal	54
Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Bonggol Pisang Kepok Zona Irradikal.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman Pisang Kepok	70
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen.....	73
Lampiran 3. Perhitungan Larutan Sampel	75
Lampiran 4. Analisis One Way Anova	77
Lampiran 5. Tabel Baca Bakteri	79
Lampiran 6. Contoh Perhitungan Zona Hambat Radikal dan Irradikal Fraksi Etil Asetat Kosentrasi 50%	80
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	81

DAFTAR SINGKATAN

ESBL	<i>Extended Spectrum Beta Lactamase</i>
MC	<i>MacConkey</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
KIA	<i>Kligers Iron Agar</i>
SIM	<i>Sulfide Indol Motility</i>
Mr	<i>Metyl Red</i>
Vp	<i>Vorges Pascauer</i>
PAD	<i>Phenyl Alanin Diaminase</i>
AC	Acid

INTI SARI

Bonggol pisang kepok mengandung senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan membuktikan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bonggol pisang kepok dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) dan membandingkan kemampuan penghambatannya dengan kontrol positif Chloramphenicol.

Bonggol pisang kepok dimaserasi dengan etanol 96% kemudian dilarutkan dengan air hangat dan difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Pengujian antibakteri dilakukan terhadap ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air bonggol pisang kepok. Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri yaitu metode difusi. Kontrol negatif yang digunakan DMSO 10% sedangkan kontrol positif yang digunakan yaitu chloramphenicol. Hasil ditunjukkan dari diameter zona hambat radikal. Analisis statistik antibakteri menggunakan one way ANOVA.

Zona hambat radikal dari ekstrak etanol konsentrasi 25% sebesar 6,66 mm, konsentrasi 50% sebesar 7 mm sedangkan untuk konsentrasi 100% sebesar 6 mm. Fraksi n-heksan pada konsentrasi 25%, 50% dan 100% memberikan zona radikal yang sama yaitu 6 mm. Fraksi etil asetat konsentrasi 25% zona hambat radikal yang didapatkan 16,95 mm, konsentrasi 50% sebesar 13,3 mm sedangkan pada konsentrasi 100% sebesar 11,16 mm. Fraksi air konsentrasi 25% dan 50% didapatkan zona radikal 6 mm, konsentrasi 100% didapatkan zona hambat radikal sebesar 6,33 mm. Fraksi etil asetat konsentrasi 25% memberikan zona hambat radikal yang lebih besar terhadap *Escherichia coli* ESBL yaitu sebesar 16,95 mm termasuk intermediet, belum setara dengan kontrol positif chloramphenicol yang memiliki zona hambat radikal sebesar 31,9 mm (sensitif). Data juga didukung statistik ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara fraksi etil asetat dan chloramphenicol.

Kata kunci : Bonggol pisang kepok, ekstrak, fraksi, antibakteri

ABSTRACT

Kepok banana weevils contain flavonoid compounds that can be used as antibacterial agents. This study aims to prove the ethanol extract and fractions from the ethanol extract of kepok banana hump in inhibiting *Escherichia coli* ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamase) bacteria and comparing its inhibitory ability with Chloramphenicol positive control.

Kepok banana weevils were macerated with 96% ethanol then dissolved in warm water and fractionated using n-hexane and ethyl acetate solvents. Antibacterial testing was carried out on the extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction of Kepok banana hump. The method used for testing antibacterial activity is the diffusion method. The negative control used DMSO 10%, while the positive control used was chloramphenicol. The results are shown from the radical inhibition zone diameter. Antibacterial statistical analysis used one way ANOVA.

The radical inhibition zone of ethanol extract with a concentration of 25% was 6.66 mm, a concentration of 50% was 7 mm, while for a concentration of 100% was 6 mm. The n-hexane fraction at concentrations of 25%, 50% and 100% gave the same radical zone, namely 6 mm. Ethyl acetate fraction with 25% concentration of radical inhibition zone obtained was 16.95 mm, 50% concentration was 13.3 mm while at 100% concentration was 11.16 mm. The concentration of water fraction 25% and 50% obtained 6 mm radical zone, 100% concentration obtained a radical inhibition zone of 6.33 mm. Ethyl acetate fraction with 25% concentration gave a bigger radical inhibition zone against *Escherichia coli* ESBL, which was 16.95 mm including intermediates, not yet equivalent to the positive control chloramphenicol which had a radical inhibition zone of 31.9 mm (sensitive). The data also supported statistically there was a significant difference ($p < 0.05$) between the ethyl acetate and chloramphenicol fractions.

Key words: Kepok banana weevil, extract, fraction, antibacterial

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang utama di beberapa negara, khususnya di negara berkembang (Kementerian Kesehatan RI, 2011). Infeksi disebabkan oleh sejumlah mikroorganisme seperti bakteri yang bersifat patogen yang biasa dikenal sebagai kuman penyakit. Sejumlah bahan antimikroorganisme yang digunakan untuk menghambat kuman penyakit penyebab infeksi telah lama dikembangkan pada tingkat organisme, baik seluler maupun molekuler. Bahan antimikroorganisme tersebut dikenal dengan antibiotik (Tjay dan Rahardja, 2007).

Pemberian antibiotik yang tidak tepat dosis dan tidak tepat diagnosis akan menimbulkan resistensi bakteri (Satari, 2012). Penyebab utama terjadinya resistensi terhadap antibiotik golongan beta laktam adalah produksi dari enzim beta laktamase (Firizki, 2014). Antibiotik beta laktam dihidrolisis oleh enzim beta laktamase merupakan mekanisme yang paling sering mendasari terjadinya resistensi terhadap antibiotik golongan beta laktam pada bakteri gram negatif yang penting secara klinis (Bush dan Jacoby, 2010).

Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) sering ditemukan pada bakteri golongan *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* adalah kelompok bakteri basil gram negatif yang besar dan heterogen, dengan habitat alamnya di saluran cerna manusia dan hewan (Brooks *et al.*, 2008). Famili *Enterobacteriaceae* memiliki

banyak genus seperti *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia* dan lain-lain. Enterobacteriaceae terdiri dari 25 genus dan 110 spesies, tetapi hanya 20-25 spesies yang memiliki arti klinis, dan spesies lainnya jarang ditemukan (Brooks *et al.*, 2008).

Salah satu tanaman yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu tanaman pisang (Suhartanto, 2012). Ekstrak etanol 96% bonggol pisang kepok memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti senyawa fenol, saponin dalam jumlah yang banyak, glikosida dan tanin (Ningsih dan Agustien, 2013)

Berdasarkan penelitian Ningsih dan Agustien (2013) bahwa ekstrak etanol bonggol pisang kepok memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstrak kental bonggol pisang kepok memiliki diameter daerah hambat bakteri tertinggi terhadap *Staphylococcus aureus* (20,39 mm) yang bersifat irradikal dan terhadap *Escherichia coli* (18,96 mm) yang bersifat radikal. Aktivitas flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan menyebabkan kerusakan pada membran sel dan menghambat sintesis makromolekul sel bakteri (Dzoyem *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*). Fraksinasi dilakukan agar mendapatkan senyawa aktif yang lebih spesifik dalam penghambatan bakteri *Escherichia coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*).

B. Perumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini yaitu:

1. Apakah ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) mampu menghambat bakteri *Escherchia coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*)?
2. Apakah kemampuan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) penghambatannya setara dengan kontrol positif Chloramphenicol?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Membuktikan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) mampu menghambat bakteri *Escherchia coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*).
2. Membandingkan kemampuan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) penghambatannya setara setara kontrol positif Chloramphenicol.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) dalam pengembangan obat tradisional.

Menambah sumber data ilmiah atau rujukan bagi penelitian selanjutnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan melakukan analisis pada data dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok pada *Escherchia coli* ESBL.

B. Sampel

Sampel

Sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.). Bonggol pisang dari tanaman pisang kepok yang diambil dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah purposif sampling yaitu teknik pengambilan sampel yang didasarkan pada suatu ketentuan atau pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti sendiri, berdasarkan ciri atau sifat-sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya bonggol pisang dalam penelitian ini menggunakan bonggol pisang kepok yang segar dan tidak rusak.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari bonggol pisang kepok dengan seri konsentrasi yang berbeda yaitu 25%, 50% dan 100%.

2. Variabel tergantung pada penelitian ini yaitu aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok.
3. Penghambatan setara dengan Chloramphenicol yaitu daya hambat sama atau masuk dalam rentang sensitifitas Chloramphenicol dengan diameter hambat \geq 18 mm.
4. Variabel terkendali pada penelitian ini yaitu kemurnian bakteri uji *Escherchia coli* ESBL, kondisi laboratorium (meliputi alat dan bahan yang digunakan harus steril) dan media yang digunakan untuk penelitian.

D. Definisi Operasional Variabel Utama

1. Ekstrak etanol bonggol pisang kepok adalah hasil ekstraksi dari bonggol pisang kepok dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak yang lebih kental.
2. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksi bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) merupakan hasil fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air, lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Filtrat diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh fraksi pekat.
3. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ESBL *Escherchia coli* yang resisten terhadap beta laktam yang sudah diujikan dengan Ceftazidime yang resisten \leq 22 mm dan Cefotaxime resisten \leq 27 mm yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

4. Zona irradikal menunjukkan pertumbuhan bakteri tidak terhambat seluruhnya, sehingga pada zona tersebut masih terdapat beberapa koloni bakteri yang dapat bertahan atau resisten.
5. Zona radikal adalah zona dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, artinya pertumbuhan bakteri dihambat seluruhnya atau bakteri cenderung sensitif terhadap bahan uji

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol maserasi, neraca analitik (Acis BC 500), blender (Philips), *rotary evaporator* (IKA HB 10 basic), bejana maserasi, *waterbath*, cawan penguap, corong pisah (pyrex), mikropipet, cawan petri steril, jarum ohse, korek api, gelas ukur (pyrex), beaker gelas (pyrex), kertas saring, kertas label, mikroskop binokuler, pipet volume, rak tabung reaksi, kapas lidi steril, ayakan 40 mesh, pipet tetes, eppendorf, oven, *autoklaf*, inkubator, tabung reaksi, jangka sorong.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan yaitu bonggol pisang kepok, bakteri uji *Escherchia coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*). Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nutrien Agar* (NA), *MacConkey*, SIM, KIA/TSIA, MR, VP, Citrat, Urea, PAD, Glukosa, Manitol, Maltosa, Laktosa, Sukrosa.

Bahan kimia yang digunakan yaitu pelarut *n*-heksan, etil asetat, etanol 96%, antibiotik chloramphenicol, spiritus, *blank paper disk*, aquadest, pelarut DMSO 10%, kloroform, ammonia, asam sulfat pekat, pereaksi mayer, pereaksi dragendof, FeCl₃, serbuk magnesium, HCl pekat, HCl 1 N, anhidrat, pereaksi sitoborat, ceftazidime, cefotaxime, cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, cat Gram D, NaCl 0,9%, reagen kovack, KOH 40%, HCl 0,1, FeCl₃ 10%, BHI, minyak emersi, alkohol mikroskop.

F. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman pisang

Tahapan pertama dalam penelitian ini yaitu memastikan kebenaran tanaman pisang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman pisang. Tanaman pisang akan di determinasi terlebih dahulu di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Pembuatan serbuk bonggol pisang

Bonggol pisang yang telah dipilih kemudian dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran yang menempel, lalu ditiriskan dan dipotong-potong dengan ketebalan 2 mm. Bonggol pisang yang sudah dipotong-potong dikeringkan dengan sinar matahari tanpa terpapar langsung oleh cahayanya dengan cara ditutupi kain hitam. Bonggol pisang yang telah kering kemudian diblender dan diayak menggunakan pengayak ukuran 40 mesh (Oentari, 2018).

3. Pembuatan ekstrak etanol bonggol pisang

Serbuk bonggol pisang direndam dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Serbuk bonggol pisang sebanyak 1 kilogram ditambahkan dengan etanol 96% 7,5 liter (1:7,5) di dalam bejana maserasi yang tertutup rapat dan dibiarkan selama 3 hari pada temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk setiap hari, setelah 3 hari disaring sehingga diperoleh filtrat dan ditampung dalam wadah penampung (botol maserasi). Ampas direndam kembali dengan etanol 96 % sebanyak 2,5 liter (1:2,5) dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali diaduk dan didaring kembali. Seluruh filtrat yang diperoleh dijadikan satu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, kemudian dilanjutkan diatas waterbath pada suhu yang sama hingga diperoleh ekstrak kental (Ningsih *et al.*, 2013).

4. Fraksinasi

a. Pembuatan fraksi *n*-heksan

Ekstrak etanol bonggol pisang kepek yang telah dipekatkan ditimbang seksama 20,0 gram, dilarutkan dalam air hangat 20,0 mL sampai larut dan difraksinasi dengan *n*-heksan sebanyak 20,0 mL, fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali menggunakan corong pisah. Filtrat *n*-heksan dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 40°C, filtrat diuapkan diatas waterbath. Filtrat *n*-heksan yang sudah dipekatkan disebut fraksi *n*-heksan (Maravirnadita, 2019).

b. Pembuatan fraksi etil asetat

Residu fraksinasi n-heksan ditambahkan etil asetat dengan perbandingan (1:1) menggunakan corong pisah, fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat etil asetat dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 40°C, filtrat diuapkan diatas waterbath. Filtrat etil asetat yang sudah dipekatkan disebut fraksi etil asetat. Residu fraksinasi etil asetat disebut dengan fraksi air (Maravirnadita, 2019).

5. Penapisan fitokimia

a. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok ditimbang 1,0 mg dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 2,0 mL kloroform dan 2,5 mL ammonia 10%, lalu ditambahkan asam sulfat 2,0 mL untuk memperjelas pemisahan dengan terbentuknya 2 fase berbeda. Bagian atas dari fase yang terbentuk diambil, kemudian ditambahkan reagen Mayer dan Dragendof. Endapan putih yang terbentuk menandakan ekstrak memiliki senyawa alkaloid.

b. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok ditimbang 1,0 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium secukupnya dan 10 tetes asam klorida (HCl) pekat. Warna kuning, orange dan merah yang terbentuk dalam larutan menandakan adanya senyawa flavonoid.

c. Identifikasi Saponin

Ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok ditimbang 1,0 mg, ditambahkan dengan akuades 1,0 mL kemudian dikocok kuat selama kurang lebih 1 menit. Selanjutnya didiamkan selama 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk kemudian tambahkan HCl 1 N. Buih yang terbentuk selama 10 menit dengan tinggi 1-3 cm maka ekstrak memiliki senyawa saponin.

d. Identifikasi Steroid dan Terpenoid

Ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok ditimbang 1,0 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan kloroform sebanyak 20 tetes, kemudian dikocok. Sampel ditambahkan 2 tetes asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat. Warna biru atau hijau yang terbentuk menandakan adanya steroid dan warna merah atau ungu adanya terpenoid.

e. Identifikasi Tanin dan Polifenol

Ekstrak etanol dan fraksi bonggol pisang kepok ditimbang 1,0 mg, ditambahkan dengan air panas kemudian tetesi menggunakan FeCl_3 1%. Warna hijau kehitaman yang terbentuk menandakan adanya senyawa tanin.

6. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasi terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, kapas lidi, dan beaker glass disterilisasi dengan oven pada suhu 170°C - 180°C selama 2 jam sedangkan alat-alat seperti jarum ohse disterilkan dengan pemanasan langsung (Suriawati 2005).

7. Uji karakterisasi bakteri *Escherchia coli* ESBL

a. Pengecatan Gram

Dibuat preparat bakteri kemudian ditetesi dengan cat Gram A Kristal Violet dan dibiarkan selama 1 menit. Zat warna dibuang dan dicuci menggunakan air mengalir. Kemudian preparat ditetesi dengan cat Gram B Iugol Iodine dan dibiarkan selama 1 menit, lalu zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir. Preparat ditetesi dengan cat Gram C alkohol dibiarkan 30 detik lalu segera dibuang. Setelah itu preparat ditetesi dengan cat Gram D safranin, dibiarkan selama 1 menit dan zat warna dibuang lalu dicuci dengan air mengalir. Preparat dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100×.

b. Isolasi Bakteri pada Media *MacConkey*

Bakteri yang telah digoreskan pada media *MacConkey* Agar diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Kemudian diamati koloni pada media *MacConkey*.

c. Uji Biokimia

1. Uji (*Sulfide Indole Motility*) SIM (Dwinna, dkk., 2016)

- a. Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri dari media ke tryptophan broth, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- b. Indol : ditambah 3-4 tetes reagen kovack melalui dinding tabung reaksi. Uji indol positif, ditandai dengan terbentuknya cincin merah.
- c. Motil : hasil positif jika terdapat pertumbuhan yang menyebar disekitar tusukan atau pada permukaan media atau media menjadi keruh.

- d. H₂S : hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media.
2. Uji MR (Metal Red)
 - a. Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media MR, diinokulasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - b. Ditambah 2-3 tetes reagen MR. MR positif, jika terbentuk warna merah pada media.
 3. Uji VP (Voges Proskauer)
 - a. Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media VP, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - b. Ditambah 10 tetes reagen Barried dan 3-4 tetes KOH 40%.
 - c. Uji VP positif, jika terbentuk warna pada media.
 4. Uji (*Kigler Inron Agar/Triple Sugar Iron Agar*) KIA/TSIA

Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media TSIA diambil 1 ose dan ditanam dengan cara digores pada lereng media dan ditusukan sampai dasar media, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 5. Citrat

Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan gores kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna biru pada media.

6. Urea

Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji urease fermentasi ditandai dengan berubahnya warna media menjadi merah.

7. Uji (*Phenil Alanin Diaminase*) PAD

Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan warna hijau pada media setelah ditambahkan HCl 0,1 N sampai media berwarna kuning dan ditambahkan 5 tetes FeCl₃ 10%.

8. Fermentasi karbohidrat

Secara aseptis diinokulasikan biakan bakteri ke media, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Gula-gula positif ditandai dengan media berwarna kuning. Adanya indikator Phenol Red akan menyebabkan media menjadi kuning. Gas (+) ditandai dengan kosongnya tabung Durham.

8. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri dari kultur kerja dibuat suspensi bakteri dengan menggunakan larutan NaCl fisiologi. Dengan cara koloni bakteri diambil lima ose bakteri uji *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10mL NaCl 0,9%, lalu dikocok sampai homogen. Kekeruhan suspensi bakteri tersebut lalu dibandingkan dengan standar Mac Farland (Handayani, 2016).

9. Pembuatan media

Media NA dibuat dengan cara ditimbang Nutrient Agar (NA) sebanyak 2,8 g, lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades menggunakan erlenmeyer. Media yang telah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 212° C selama 15 menit (Firdaus *et al.*, 2020).

10. Pengujian konfirmasi *Escherchia coli* ESBL

Konfirmasi ESBL pada bakteri *Escherchia coli* penghasil ESBL menggunakan metode difusi cakram berdasarkan panduan dari *Clinical and Laboratory Standar Institute* (CLSI) (CLSI, 2019). Bakteri digoreskan pada *Nutrient Agar* (NA) sampai seluruh permukaan cawan petri tertutup kertas cakram yang berisi antibiotik diletakkan di atas NA dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Antibiotik yang digunakan dalam penelitian adalah Ceftazidime dan Cefotaxime.

Tabel 2. Standar Uji Sensibilitas Antimikroba

Antibiotik	Ukuran	Interpretasi Sensibilitas			Keterangan
		Sensitif	Intermediet	Resisten	
Chloramphenicol (cl)	30µg	≥ 18	13-17	≤ 12	<i>Enterobacteriaceae</i>
Ceftazidime (caz)	30µg	-	-	≤ 22	Uji skrining dan konfirmasi ESBL pada <i>Escherchia coli</i>
Cefotaxime (ctx)	30µg	-	-	≤ 27	

Sumber: CLSI, 2019

11. Pengujian antibakteri secara difusi

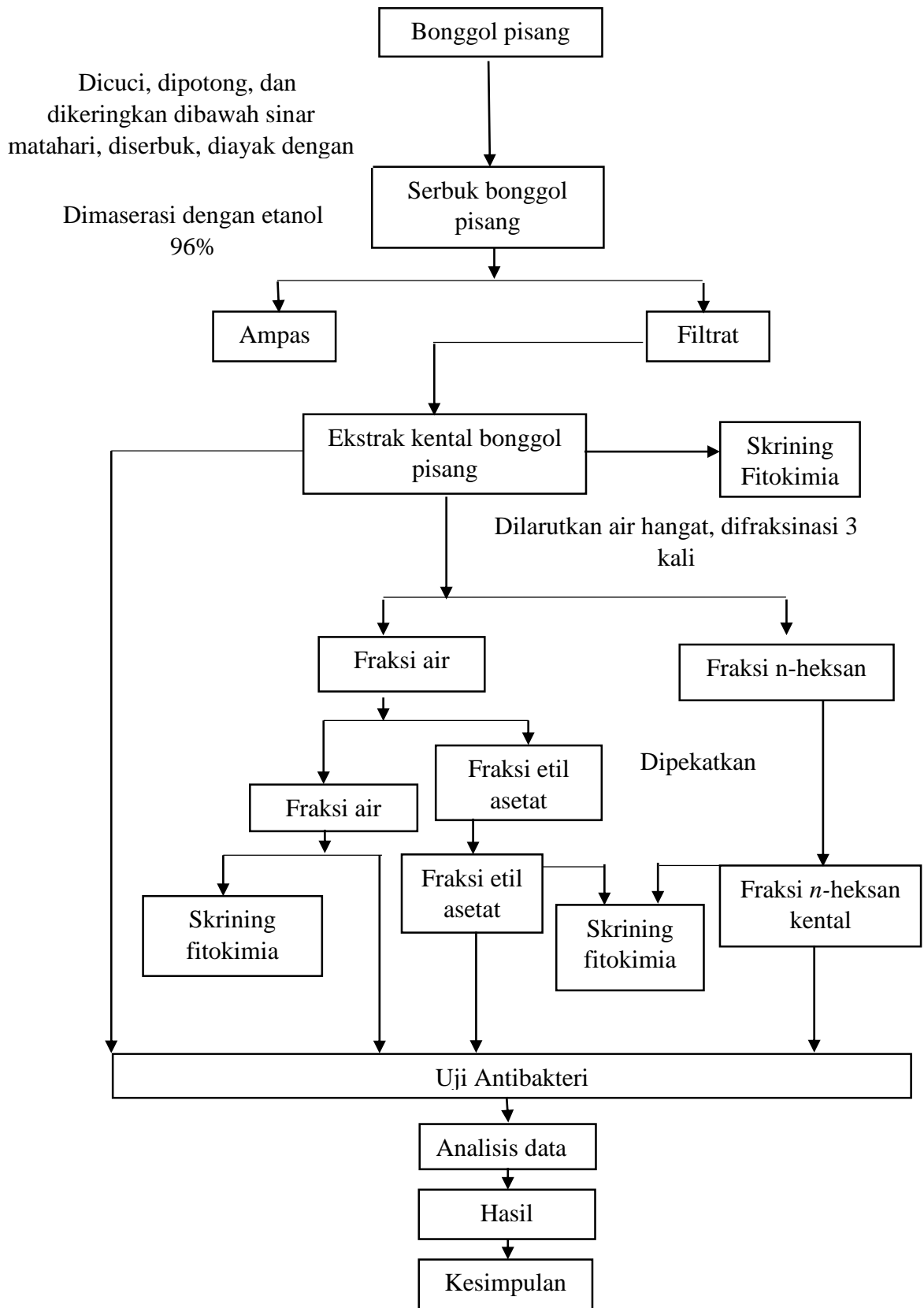
Kapas lidi dicelupkan pada suspensi bakteri, kemudian digoreskan pada media NA secara merata. Medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Media tersebut terdapat 6

cakram dengan jarak yang sama. Setiap cakram ditetesi sebanyak 25 µl ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, dan Chloramphenicol sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Konsentrasi ekstrak dan fraksi tiap petri dengan konsentrasi 25% atau ditimbang 0,25 gram ditambah DMSO sampai dengan 1 ml, konsentrasi 50% atau ditimbang 0,50 gram ditambah DMSO sampai dengan 1 ml, dan konsentrasi 100% ditimbang 1 gram ditambah DMSO sampai dengan 1 ml. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar disk yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar *disk* menandakan bahwa kandungan bonggol pisang memiliki daya hambat terhadap *Escherchia coli* ESBL. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji.

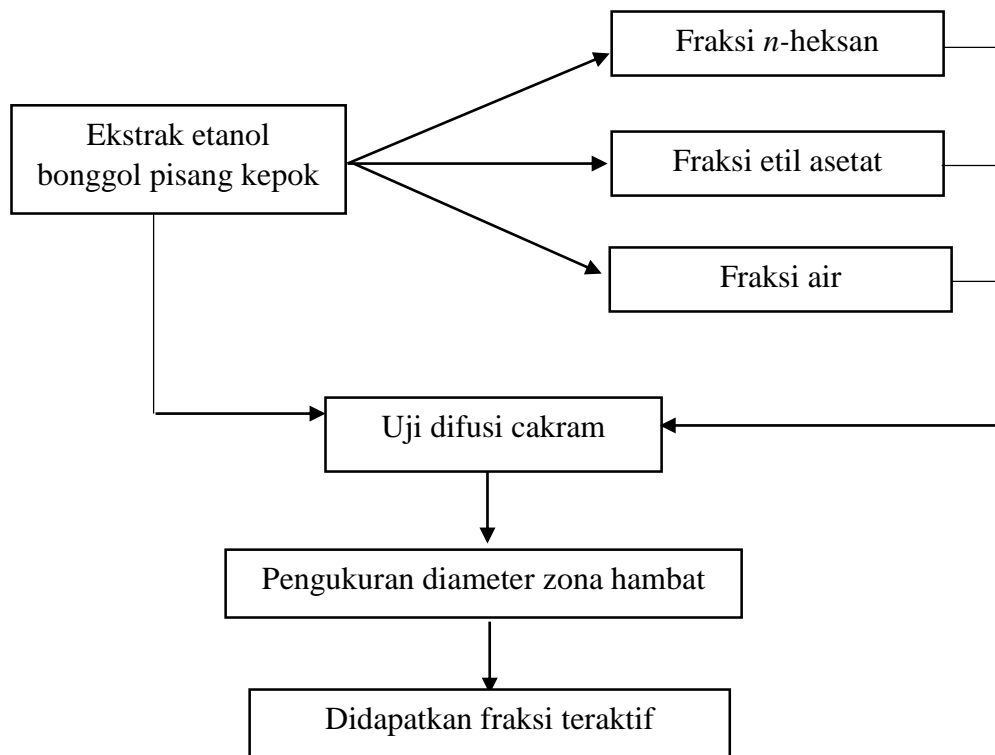
G. Analisis Data

Data yang diperoleh untuk membandingkan aktivitas antibakteri antar konsentrasi fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol dari bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) serta kontrol positif dan kontrol negatif terhadap *Escherchia coli* ESBL dengan metode difusi, dalam penelitian ini menggunakan analisis statistik dengan *One Way* (ANOVA) satu jalan dengan menggunakan *software* SPSS 18.

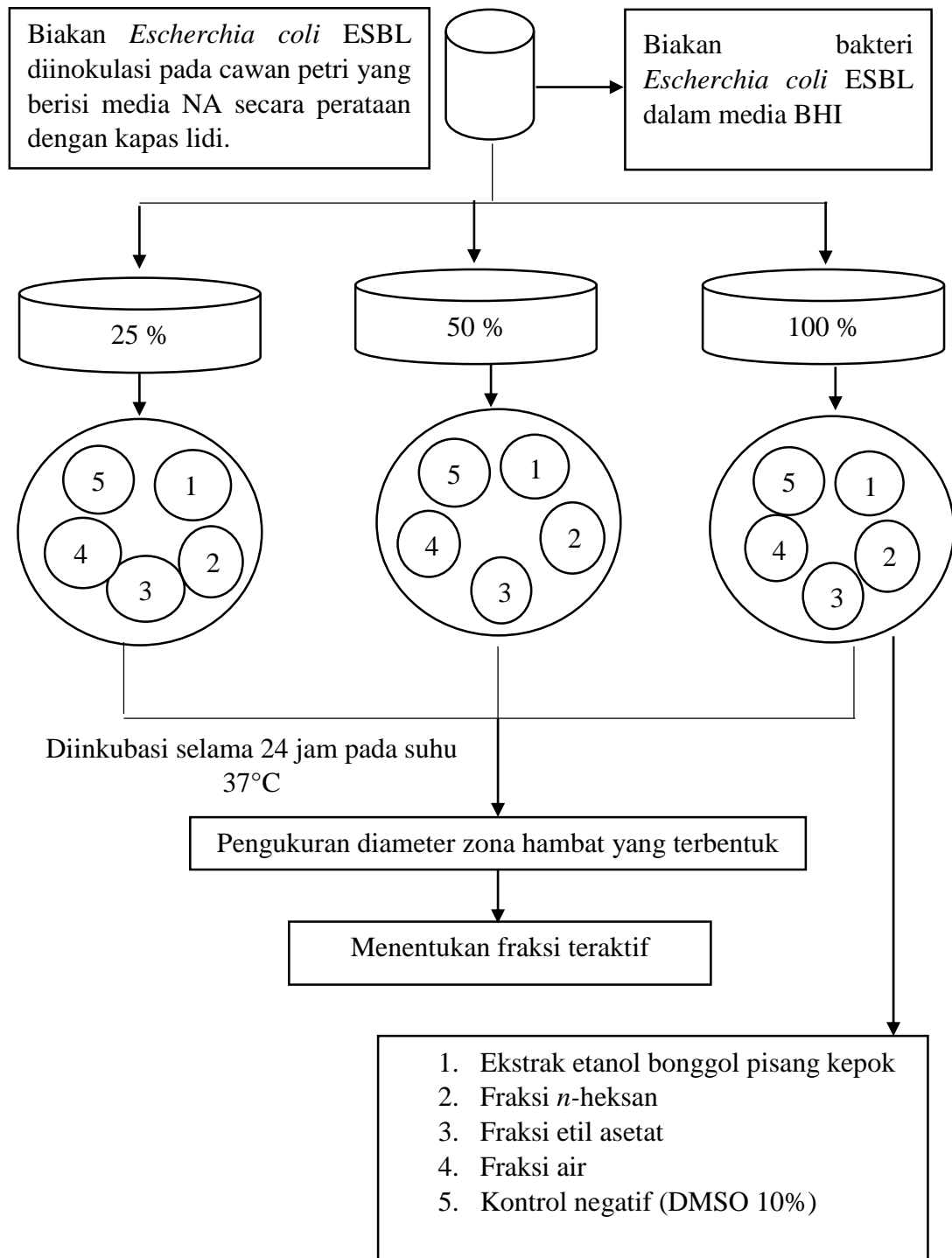
H. Alur Jalannya Penelitian



Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi ekstrak bonggol pisang kepek



Gambar 4. Skema uji aktivitas antibakteri



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas bonggol pisang terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL secara difusi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) mampu menghambat bakteri *Escherchia coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) dengan zona hambat radikal yang paling besar pada fraksi etil asetat pada konsentrasi 25% sebesar 16,95 mm.
2. Kemampuan penghambatan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) belum setara dengan penghambatan kontrol positif Chloramphenikol dikarenakan kemampuan penghambatan terbesar pada fraksi etil asetat konsentrasi 25% dengan zona hambat radikal 16,95 mm kategori intermediet lebih kecil dibandingkan dengan kemampuan penghambatan kontrol positif Chloramphenicol dengan zona hambat radikal 31,9 mm kategori sensitif. Data juga didukung statistik ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara fraksi etil asetat dan chloramphenicol.

B. Saran

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa antibakteri pada sampel bonggol pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla.) sehingga dapat diperoleh

senyawa tunggal yang berefek sebagai antibakteri, serta dapat dilakukan pembuatan optimasi konsentrasi pada konsentrasi kurang dari 25% pada fraksi etil asetat

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, N. R. 2013. *Skrining, Isolasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Bioaktif Jamur Endofit dari Tanaman Kina (Cinchona pubescens Vahl.)*. Skripsi Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Afif, S. 2013. Ekstraksi Uji toksisitas dengan Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah (*eucheuma Spinosum*) dari perairan Sumenep Madura. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium guajava*. *J Bioscientiae*. 1(1):31-38.
- Anief, M 2006, *Ilmu meracik obat: teori dan praktik*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Astawan, M. 2004. *Mie dan Bihun*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Basset, J., Denny, R. C., Jeffrey, G.H., Mendham, J. 1994. *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Edisi IV. Jakarta : EGC.Halaman 165.
- Bernatal, S., 2013, Analisis Mutu Tepung Bonggol Pisang dari Berbagai Varietas dan Umur Panen yang Berbeda, *Jurnal Ilmiah Universitas Mulawarman*.
- Braun, S. D., Ahmed, M. F. E., El-Adawy, H., Hotzel. H., Engelman, I., Weib, D., Moneckel. S., Ehricht R. 2016. *Surveillance of Extended Spectrum Beta lactamase producing Escherichia coli in dairy cattle farms in the Nile Delta, Egypt*. *Front Microbiol*. 7:1-14.
- Brink, B., 2013, *Urease test Protocol*. *American society for microbiology*.
<http://www.microbleribrary.org/library/laboratory-test/2871-urease-test-protocol>. (18 Juli 2020).
- Brooks., *et al*. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed. 23. Jakarta : EGC
- Brooks, G. F., Butel, J. S., Carroll, K. C., Morse, S. A., Jawetz, Melnick & Adelberg's *Medical Microbiology*. 24th Ed. USA : Mc Graw Hill. 2007 ; 224–7.
- Brooks, G. F., Janet S Butel, Stephen A Morse. 2013. *Mikrobiologi kedokteran jawetz, melnick, dan adelberg*. Edisi ke-23. Jakarta: EGC.

- Brown, L., Wolf, J.M., Prados-Rosales, R. and Casadevall, A., 2015. Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nature Reviews Microbiology*, 13(10), p.620
- Bush, K., Jacoby, G. A. 2010. *Updated Functional Classification of β -Lactamases*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54:3:969-976.
- Cahyono, Bambang. *Pisang*. Yogyakarta: Kanisius. 2009.
- Champoux, J. J., Neidhardt, F. C., Drew, W. L., & Plorde, J. J. (2004). Enterobacteriaceae in Pathogenic Bacteria. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds), *Sherris medical microbiology fourth edition: an introduction to infectious diseases*, (pp.343-357). New York, USA: McDrawHill.
- Depkes RI, 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI, Jakarta: Depkes RI, hal.109-110.
- Didik Gunawan & Sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Direktorat Gizi Depkes RI. 1996. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bharatara Karya Aksara.
- Dwina, Rika, Siska, M., (2016), Identifikasi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Yang Dibudidayakan Di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh, *Jurnal Ilmiah Universitas syiah Kuala*.
- Fachruddin, H. *Analisis Fitokimia Tumbuhan. Fakultas Farmasi*. Universitas Hasanuddin. Makassar. 2001.
- Firizki, F. 2014. *Pola Kepekaan Escherichia coli and Klebsiella sp. To Antibiotic Sefalosporin Period Of Year 2008-2013 Di Bandar Lampung*. Bandar Lampung Medical Journal of Lampung University.
- Gu, T., 2000, *Liquid-Liquid Partitioning Methods for Bioseparations*, Academic Press, 2,329-364.
- Halimah, 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Malang.
- Handayani, V., 2016, Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat, Universitas Muslim Indonesia, Makassar.

- Hardjoeno, 2007. *Kumpulan Penyakit Infeksi dan Tes Kultur Sensitivitas Kuman serta Upaya Pengendaliannya*. Makasar : Cahaya Dinan Rucitra. Hal. 158.
- Hartiwi, 2001, Pengaruh Waktu Pemanasan dan Kombinasi Ekstrak Jahe, Kunyit, Kencur dan Temulawak Terhadap Daya Tangkap Radikal Bebas (DPPH), UGM, Yogyakarta.
- Haryanti, N. A., C.S. Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (*Syzygium mytifolium Walp*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*. *J. Kimia Mulawarman*.
- Hepni, 2017, Analisis Fraksi Buah Pisang Batu (*Musa balbisiana Colla*) yang Bersifat Sebagai Antibakteri dan Mekanismenya, *Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara*.
- Hernani dan Nurdjanah, R., 2009, Aspek pengeringan dalam mempertahankan kandungan metabolit sekunder pada tanaman obat., *Perkembangan Teknologi Tro*, Vol 21 (2), 33-39.
- Jawetz, E., Melnick, J. L. and Adelberg E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran, terjemahan dari Medical Microbiology oleh Mudihardi, Kuntaman, Warsito, Mertaniasih, Harsono, dan Alimsardjono, Salemba Medika, Surabaya*.
- Jawetz, E., J. Melnick. E., Adelberg. 2008. *Medical Microbiology*, 23th ed., Penerbit : EGC.
- Jorgensen, J.H., M. A. Pfaller, K. C. Carroll, G. Funke, M. L. Landry, S. S Richter, dan D. W Warnock. 2015. *Manual of Clinical Microbiology, 11th ed.* ASM Press. Washington DC.
- Risna, W. A. P., 2016. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* Pada Jajanan Batagor Di Sekolah Dasar Negeri Di Kelurahan Pisangan, Cirendeu, dan Cempaka Putih Kecamatan Ciputat Timur, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Kemenkes RI, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia edisi ke-1*, Jakarta.
- Kemenkes RI, 2016, *Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*, Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. 2011. *Pedoman penggunaan antibiotik*. Jakarta. Departemen Kesehatan RI. Kenneth.
- Khanfar, H. S., Bindaynaz, K. M., Senok, A. C., Botta, G. A. 2009. Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: trends in the hospital and community settings. *Journal of Infection in Developing Countries* 3(4):295-299.

- Lumempouwa, L.I., E. Suryantoa, and J.J.E. Paendonga, *Aktivitas Anti UV-B Ekstrak Fenolik dari Tongkol Jagung (Zea mays L.)*. JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE, 2012. 1(1): p. 1-4.
- Maleki., *et al.* 2008. Antibacterial Activity of The Fluid of Iranian Torilis Leptophylla Against Some Clinical Pathogen. *Pakistan Journal of Biological Science*. 11, (9), 1286-1289.
- Maravirnadita, A. H., 2019, *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksan, Etil Asetat, dan Air dari Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola) dengan Metode DPPH*, Universitas Ahmad Dahlan.
- Marliana, S., Suryanti, Suyono, 2005, *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*, Surakarta: Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sebelas Maret.
- Mutiasari, IR. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Fraksi Aktif, Journal. Jakarta: FMIPA-UI, 2012.
- Mulyati, Endah Sri. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Ceremai (Phyllanthus acidus (L.) Skeels) Terhadap Staphylococcus aureus Dan Escherechia coli Dan Bioautografinya*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2009.
- Mycek., Mary, J., 2001. Farmakologi edisi 2. Alih bahasa Awar Agoes. Jakarta: Widya Medika.
- Nazri, Mohd, N. A. A., Ahmat, N., Adnan, A., Mohamad Syed, S.A., & Ruzaina Syaripah, S. A. (2011). In Vitro Antibacterial and Radical Scavenging Activities of Malaysian Table Salad, *African Journal of Biotechnology* Vol. 10 (30).
- Ningsih, A. P., dan Agustien, A. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca Linn.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 2(3): 207-213. ISSN 2303-2162.
- Oentari, O. D. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, FRAKSI n-Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air dari Biji Pepaya (*Carica papaya, L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Octavianus, Y., 2019. Optimasi Carbopol 940 dan Propilenglikol pada Sediaan Gel Antibakteri *Staphylococcus aures* Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya*

- L.) – Aplikasi Desain Faktorial, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas, Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Pelczar, M. J., Chan E. C. S. and Pelczar, M. F., 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Penerjemah: Hadioetomo, R. S. dkk, Jilid I, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pelczar, M. J., Chan E. S. C. 2008. *Dasar- dasar Mikrobiologi 2*. Ratna SH dkk, penerjemah: Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: Elements of Microbiology. Sirait M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Bandung: ITB.
- Pelczar, Michael J. & Chan, E.C.S. 2009. *DasarDasar Mikrobiologi*. UI Press: Jakarta
- [PHAC] Public Health Agency of Canada. 2012. E. coli. Artikel [Internet]. [diunduh 2016 April 10]. Tersedia pada: <http://www.phac-aspc.gc.ca/fssa/fs-fi/ecoli-eng.php>.
- Pitout, J. D. D., Laupland, K. B. 2008. *Extended-Spectrum β -Lactamase producing Enterobacteriaceae: An emerging public-health concern*. The Lancet Infectious Diseases 8:159-66.
- Poelengan, M., Andriani, K., Susanti, S., Sussan,L., Komala, M., 2007, Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Bungur (*Lagerstormenia speciosa* Pers) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*, *Laporan Penelitian*, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Praetyo, Inoriyah E., 2013, Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia), Bengkulu, Badan Penerbit Fakultas Pertanian UNIB.
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Penerbit Erlangga.
- Pratiwi, I. D. 2013. Uji Efektivitas *Andrographis paniculata* (Sambiloto) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. [Skripsi]. Bandar Lampung : Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.
- Prayoga, E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. [Skripsi]. Jakarta : Fakultas Kedoktera, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Rahayu, S. A., dan M. M. H. Gumilar. 2017. Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indo. J. Pharm. Sci Tech.*, 4(2), 50-56.
- Rijayanti, R. K., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *In*

Vitro, Naskah Publikasi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.

- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala, dan V. M. A. Makang, 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem, Prog.*, 1 (1) : 47-45.
- Satari, M. H. 2012. *Multidrug Resistance (MDR) Bakteri Terhadap Antibiotik. Prosiding Temu Ilmiah*. 9 Juli 2012, Bandung, Indonesia. Hal : 1-7.
- Septiningsih, Erna. Efek Penyembuhan luka bakar ekstrak etanol 70% daun pepaya (*Carica papaya*) dalam sediaan gel pada kulit punggung kelinci (New Zealand). *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah. Surakarta. 2008.
- Sertini, F. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi n-Heksan serta Etil Asetat Buah Sawo terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *Skripsi*. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Halaman 8-20.
- Severin Julie"tte A., Ni Made Mertaniasih, Kuntaman Kuntaman, Endang S. Lestari, Marijam Purwanta, Nicole Lemmens-Den Toom, D. Offra Duerink, Usman Hadi, Alex van Belkum, Henri A. Verbrugh and Wil H. Goessens., 2010, Molecular characterization of extended-spectrum blactamases in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Surabaya, Oxford University Press on behalf of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy, England
- Siswandono, 2008. *Kimia Medisinal ed 2*. Surabaya: Airlangga University Press (Hal: 134).
- Suhartanto, M. Rahmad. 2012. *Buku Ajar Teknologi Sehat Budidaya Pisang: Dari Benih Sampai Pasca Panen*. Bogor: Pusat Kajian Hortikultura Tropika. ISBN 979-979-18361-3-5.
- Susanti, Meliana., Isnaeni dan Poedjiarti, Sri, Validasi Metode Biaoutografi untuk Determinasi Kloramfenikol, *Jurnal Kedokteran Indonesia*, Vol 1, No, Januari 2009, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, Surabaya
- Suyanti, & Supriyadi, A. 2008. *Pisang, Budi Daya, Pengolahan, dan Prospek Pasar*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Talaro, K. P., 2008, *Foundation in Microbiology: Basic Principles*, Sixth Edition, Mc Graw Hill, New York.

- Tenailon., Skurnik, D., Picard, B., Denamur, E. 2010. *The Population Genetics Of Commensal Escherichia coli*. Nature Review Microbiology. 8(3): 207-217.
- Tjay, T. H dan Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta. PT. Elex Media Komputindo. 193.
- Voigt, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Diterjemahkan oleh Soendani N. S.*, UGM Press, Yogyakarta.
- Waluyo dan Lud, 2010, *Mikrobiologi Lingkungan*, Universitas Muhammadiyah Malang, MalangPress.
- Warsa, I. Wayan, dkk, 2013. Bioetanol dari Bonggol Pohon Pisang: *Jurnal Teknik Kimia* 8(1): 37-41.
- Yuanita, dkk. 2008. Pabrik Sorbitol dari Bonggol Pisang (Musa Paradisiaca) dengan proses Hidrogenasi Katalitik. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*. ITS. Surabaya