

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ESBL
DAN *Proteus mirabilis***

(Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Of Kersen Leaves (*Muntingia calabura* L.) Against *Escherichia coli* ESBL And *Proteus mirabilis* Bacteria)

SKRIPSI



Oleh :

**WAKHIDAH INDRIYANI
4161040**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ESBL
DAN *Proteus mirabilis***

(Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Of Kersen Leaves (*Muntingia calabura* L.) Against *Escherichia coli* ESBL And *Proteus mirabilis* Bacteria)

SKRIPSI



Oleh :

**WAKHIDAH INDRIYANI
4161040**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ESBL
DAN *Proteus mirabilis***

(Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Of Kersen Leaves (*Muntingia calabura* L.) Against *Escherichia coli* ESBL And *Proteus mirabilis* Bacteria)

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 :

**WAKHIDAH INDRIYANI
4161040**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ESBL
DAN *Proteus mirabilis***

(Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Of Kersen Leaves (*Muntingia calabura* L.) Against *Escherichia coli* ESBL And *Proteus mirabilis* Bacteria)

Oleh :

WAKHIDAH INDRIYANI

4161040

Dipertahankan dihadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal : 10 September 2020

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Pendamping

Dr. Didik Wahyudi, S.Si., M.Si

Mengetahui,

Program Studi S1 Farmasi

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Ketua Program Studi,

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

Tim Penguji

Ketua : Apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc

Anggota :

1. Ardy Prian Nirwana, S.Pd. Bio., M.Si
2. Apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc
3. Dr. Didik Wahyudi, S.Si., M.Si

1.

2.

3.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Barang siapa yang menempuh perjalanan untuk mencari ilmu, maka Allah mudahkan jalannya menuju surga”

(HR.Muslim)

Siapa yang bersabar pasti beruntung

Siapa yang bersungguh-sungguh akan berhasil

Skripsi ini penulis persembahkan kepada:

Allah SWT atas segala Nikmat, Rahmat serta Hidayah-Nya sehingga memberikan kemudahan dan kelancaran. Serta Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan umat Muslim dalam beribadah kepada Allah SWT.

Ayah dan Ibu tercinta yang selalu menyebut nama saya dalam setiap doanya, selalu memberikan inspirasi, dan motivasi.

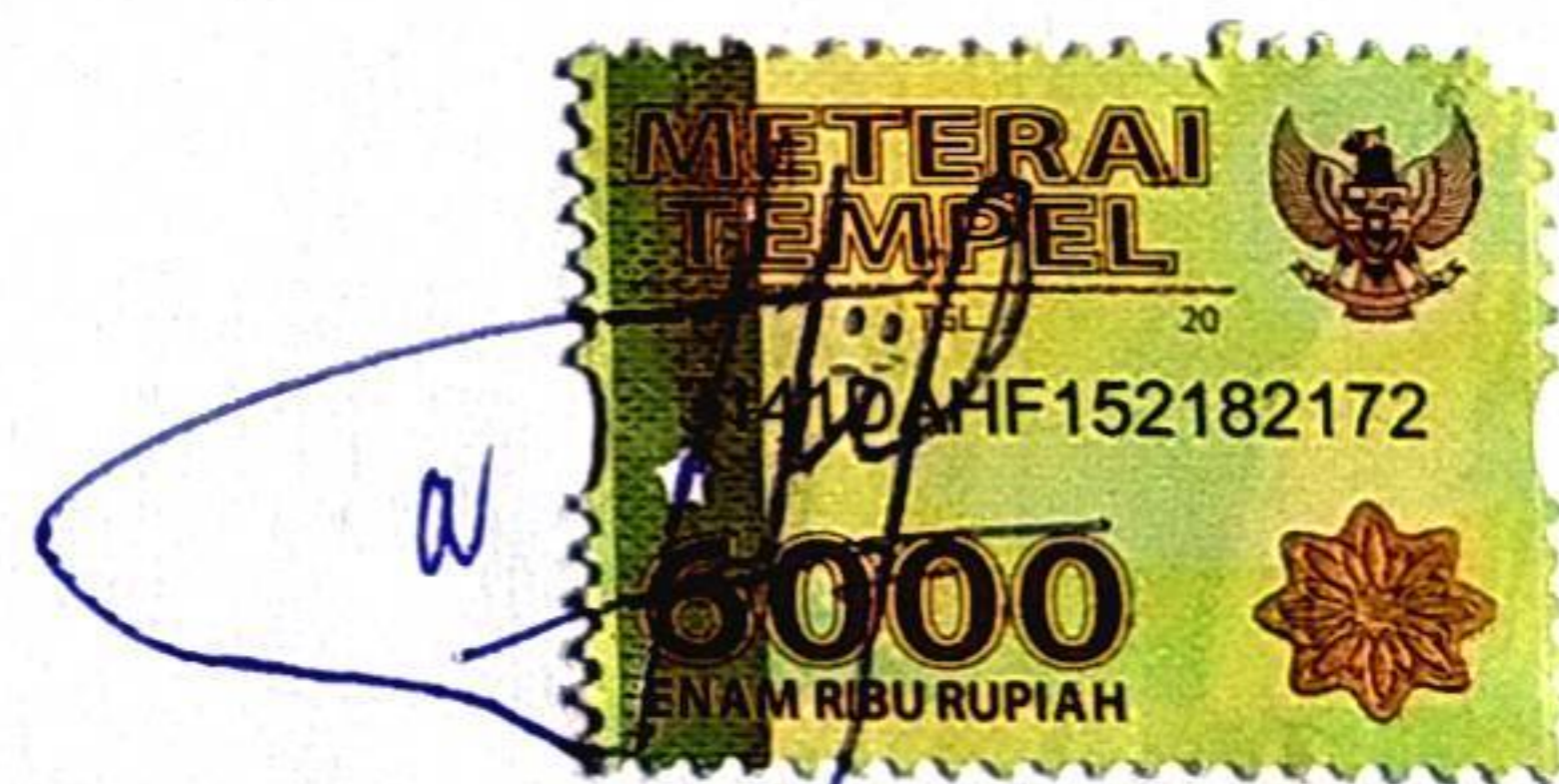
Saudara-saudara tercinta dan keluarga besar yang selalu memberi semangat dan selalu memberi dukungan yang terbaik.

HALAMAN PERNYATAAN

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

Surakarta, 18 Agustus 2020

Peneliti



(Wakhidah Indriyani)

PRAKATA

Puji Syukur kepada Tuhan yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala karunia, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis*" sebagai salah satu syarat menyandang gelar Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi di STIKES Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. apt. Hartono, S.Si, M.Si selaku ketua STIKES Nasional yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk membuat dan mengembangkan Skripsi.
2. apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm, M.Sc selaku pembimbing utama dalam penyusunan skripsi, serta Kaprodi S1 Farmasi dan juga dosen pembimbing akademik yang selalu menerima semua keluhan kesah.
3. Dr. Didik Wahyudi, S.Si, M.Si selaku pembimbing kedua dalam penyusunan skripsi yang selalu sabar, menerima segala keluhan kesah dan memberikan inspirasi, dan selalu memberi semangat.
4. apt. Novena Yety L, S.Farm, M.Sc dan Ardy Prian Nirwana, M.Si selaku penguji yang telah memberikan masukan dan saran dalam pelaksanaan skripsi.
5. Seluruh dosen prodi S1 Farmasi yang telah memberikan ilmu-ilmu dan pengalamannya yang sangat bermanfaat.

6. Ayah, Ibu dan kedua Adikku yang tercinta serta keluarga besar yang selalu memberikan inspirasi, motivasi, bimbingan serta sumber semangat dalam mengerjakan skripsi.
7. Wibowo, A.Md, Johan, A.Md, Verry Nur Arifin, A.Md selaku laboran skripsi yang selalu membantu menyiapkan alat dan bahan untuk penelitian.
8. Sinta Wulandari, Vianitta Hendrawati S, Nurma Astri A, Isnaini Nurul K, Yovina Ika A, Marlina Apriyani yang senantiasa menghibur dan memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi.
9. Seluruh tim skripsi Bakteriologi Sinta W, Vianitta H. S, Yovina Ika A, Saras O. A. P, Criste Mareta A. S, Islely P, M. Dienulloh Q. R, Thomas Putra A, dan Afif Naufal A, yang senantiasa membantu dalam penelitian, juga memberikan semangat untuk segera menyelesaikan skripsi.
10. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2016 angkatan pertama yang telah menjadi keluarga dan menyediakan banyak pengalaman dan pelajaran untuk menjadi pribadi yang lebih baik.

Akhir kata penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 8 Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN SAMPUL DALAM.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Daun Kersen.....	7
1. Deskripsi Tanaman	7
2. Morfologi Tanaman	7
3. Klasifikasi dan Tatanama.....	8
4. Nama Lain.....	9
5. Kandungan Kimia Tanaman	10
6. Kegunaan Tanaman.....	11
7. Ekstrak dan Ekstraksi.....	12
B. <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	14
1. Patogenesitas.....	16
2. <i>Extended Spectrum β-Lactamase</i> (ESBL)	16

C. <i>Proteus mirabilis</i>	18
D. Antibakteri	20
E. LandasanTeori	21
F. Hipotesis.....	23
G. Kerangka Konsep Penelitian	24
BAB III. METODE PENELITIAN	25
A. Desain Penelitian.....	25
B. Alat dan Bahan.....	25
1. Alat	25
2. Bahan	25
C. Variabel Penelitian	26
1. Variabel Bebas	26
2. Variabel Tergantung	26
3. Variabel Terkendali	26
D. Definisi Operasional	27
E. Jalannya Penelitian	27
1. Determinasi Tanaman	27
2. Penyiapan Bahan	28
3. Ekstraksi	28
4. Penapisan Fitokimia.....	29
5. Sterilisasi Alat dan Bahan	29
6. Identifikasi Bakteri.....	30
7. Pembuatan Suspensi Bakteri	33
8. Uji Pemastian Bakteri <i>Escherichia coli</i> ESBL	33
9. Uji Antibakteri Ekstrak	34
F. Analisis Data	34
G. Alur Penelitian	36
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Hasil Determinasi.....	37
B. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Kersen	37
C. Hasil Identifikasi Kandungan Fitokimia	40

D. Hasil Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ESBL	42
E. Hasil Identifikasi Bakteri <i>Proteus mirabilis</i>	51
F. Hasil Uji Pemastian ESBL	59
G. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak terhadap Bakteri Uji	60
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	69
A. Simpulan	69
B. Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Kersen.....	8
Gambar 2. Gambaran Mikroskopis Bakteri <i>Escherichia coli</i>	15
Gambar 3. Gambaran Mikroskopis Bakteri <i>Proteus mirabilis</i>	19
Gambar 4. Kerangka Konsep Penelitian	24
Gambar 5. Alur Penelitian.....	36
Gambar 6. Mekanisme Reaksi Flavonoid	41
Gambar 7. Mekanisme Reaksi Saponin	41
Gambar 8. Mekanisme Reaksi Tannin	42
Gambar 9. Hasil Mikroskopis <i>Escherichia coli</i> ESBL	43
Gambar 10. Hasil Morfologi <i>Escherichia coli</i> ESBL	44
Gambar 11. Hasil Uji Biokimia <i>Escherichia coli</i> ESBL	45
Gambar 12. Hasil Mikroskopis <i>Proteus mirabilis</i>	51
Gambar 13. Hasil Morfologi <i>Proteus mirabilis</i>	52
Gambar 14. Hasil Uji Biokimia <i>Proteus mirabilis</i>	53
Gambar 15. Hasil Uji Konfirmasi <i>Escherichia coli</i> ESBL	59
Gambar 16. Hasil Uji Daya Hambat <i>Escherichia coli</i> ESBL	61
Gambar 17. Diagram Grafik <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	62
Gambar 18. Hasil Uji Daya Hambat <i>Proteus mirabilis</i>	63
Gambar 19. Diagram Grafik <i>Proteus mirabilis</i>	64

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Hasil Kandungan Fitokimia	40
Tabel 2.	Hasil Mikroskopis <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	42
Tabel 3.	Hasil Morfologi <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	43
Tabel 4.	Hasil Uji Biokimia <i>Escherichia coli</i> ESBL	45
Tabel 5.	Hasil Mikroskopis <i>Proteus mirabilis</i>	51
Tabel 6.	Hasil Morfologi <i>Proteus mirabilis</i>	52
Tabel 7.	Hasil Uji Biokimia <i>Proteus mirabilis</i>	53
Tabel 8.	Hasil Konfirmasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ESBL	59
Tabel 9.	Hasil Diameter Zona Hambat <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	61
Tabel 10.	Hasil Diameter Zona Hambat <i>Proteus mirabilis</i>	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tanaman Daun Kersen	81
Lampiran 2.	Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Reagen Uji	84
Lampiran 3.	Hasil Uji Kandungan Fitokimia.....	86
Lampiran 4.	Hasil Uji Daya Hambat <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	87
Lampiran 5.	Hasil Uji Daya Hambat <i>Proteus mirabilis</i>	88
Lampiran 6.	Hasil Uji <i>One Way Anova Escherichia coli</i> ESBL.....	89
Lampiran 7.	Hasil Uji <i>One Way Anova Proteus mirabilis</i>	91
Lampiran 8.	Hasil Dokumentasi Pribadi	92

INTISARI

Ulkus diabetikum merupakan infeksi kronik yang disebabkan infeksi bakteri, aerob maupun anaerob *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis* merupakan bakteri yang sering ditemukan menginfeksi ulkus diabetikum, dan sudah mengalami resistensi terhadap antibiotik. Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) telah diketahui memiliki khasiat antibakteri yang bisa digunakan sebagai alternatif pengobatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya daya hambat ekstrak etanol 96% daun kersen terhadap *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis*.

Penelitian ini menggunakan desain deskriptif eksperimental variasi konsentrasi yaitu 100%, 75%, 50%, 25%. Pada penelitian ini digunakan Gentamycin 10 µg sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Data penelitian ini dianalisis menggunakan uji statistik *One Way Anova* untuk melihat perbedaan diameter zona hambat dari kontrol negatif yaitu DMSO 10% dan kontrol positif Gentamycin 10 µg.

Hasil penelitian ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol 96% mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* ESBL pada konsentrasi 100% sebesar 13,8 mm dengan nilai $p=0,002$ ($p<0,05$) yang berarti berbeda bermakna dengan kontrol negatif DMSO 10%. Hasil penelitian ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol 96% mampu menghambat bakteri *Proteus mirabilis* pada konsentrasi 100% sebesar 15,2 mm dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) yang berarti berbeda bermakna dengan kontrol negatif DMSO 10%. Nilai tersebut belum setara dengan kontrol positif Gentamycin 10 µg pada *Escherichia coli* ESBL sebesar 15,66 mm dan pada *Proteus mirabilis* sebesar 23,77 mm.

Kata Kunci: Antibakteri, Daun Kersen, *Escherichia coli* ESBL, *Proteus mirabilis*.

ABSTRACT

Diabetic ulcers are chronic infections caused by bacterial, aerobic or anaerobic infections *Escherichia coli* ESBL and *Proteus mirabilis* are bacteria that are often found to infect diabetic ulcers, and have developed resistance to antibiotics. *Kersen* leaves (*Muntingia calabura* L.) are known to have antibacterial properties that can be used as an alternative treatment. The purpose of this study was to prove the inhibition of 96% ethanol extract of cherry leaves against *Escherichia coli* ESBL and *Proteus mirabilis*.

This study used a descriptive experimental design with variations in concentration, namely 100%, 75%, 50%, 25%. In this study used Gentamycin 10 µg was used as a positive control and DMSO 10% as a negative control. The data of this study were analyzed using the *One Way Anova* statistical test to see the difference in the diameter of the inhibition zone from the negative control namely DMSO 10% and Gentamycin 10 µg positive control.

The result of this research was that *kersen* leaf extract with 96% ethanol solvent was able to inhibit *Escherichia coli* ESBL bacteria at a concentration of 100% of 13,8 mm with a value of $p=0,002$ ($p<0,05$), which means that it is significantly different from the negative control DMSO 10%. The results of this research were that *kersen* leaf extract with 96% ethanol solvent was able to inhibit *Proteus mirabilis* bacteria at a concentration of 100% of 15,2 mm with a value of $p=0,000$ ($p<0,05$) which was significantly different from the negative control DMSO 10%. This value is not equivalent to the positive control Gentamycin 10 µg in *Escherichia coli* ESBL was 15,66 mm and in *Proteus mirabilis* was 23,77 mm.

Keywords: Antibacterial, *Kersen* Leaves, *Escherichia coli* ESBL, *Proteus mirabilis*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Ulkus diabetikum merupakan suatu kondisi kronik dari diabetes mellitus yang merupakan penyebab utama dalam meningkatkan angka morbiditas, mortalitas serta kecacatan yang ada pada penderita diabetes (Zaidah, 2005). Ulkus diabetikum adalah salah satu komplikasi kronis dari penyakit diabetes melitus berupa luka pada permukaan kulit kaki penderita diabetes disertai dengan kerusakan jaringan bagian dalam atau kematian jaringan, baik dengan ataupun tanpa infeksi (Alexiadou dan Doupis, 2012). Berdasarkan data Riskesdas (2013), bahwa kenaikan jumlah penderita ulkus diabetika di Indonesia dapat terlihat dari kenaikan prevalensi sebanyak 15%. Menurut Sulistyowati (2015) prevalensi penderita ulkus kaki diabetik sekitar 15% dengan risiko amputasi 30%, angka mortalitas 32%, dan di Indonesia ulkus kaki diabetik merupakan penyebab paling besar untuk dilakukan perawatan di rumah sakit sebesar 80%. Kewaspadaan terhadap persoalan kesehatan kaki diabetes di Indonesia juga masih sangat kurang. Sarana pelayanan kaki diabetik yang masih terbatas dan kurangnya tenaga kesehatan terlatih tentang pelayanan kaki diabetik menyebabkan pelayanan kaki pada pasien diabetes di Indonesia masih kurang diperhatikan (PERKENI, 2011).

Penyebab infeksi yang sering terjadi pada luka diabetes adalah terdapatnya gabungan antara bakteri aerob dan anaerob. Anggriawan (2014) melaporkan bahwa pada penderita ulkus diabetikum terdapat kuman aerob dan anaerob dalam

kultur pus yaitu dari famili *Enterobacteriaceae sp.* (10,71%). Penelitian Syahfitriah (2014) di Rumah Sakit Anutapura Palu ditemukan bakteri *Escherichia coli* (9,75%) pada infeksi ulkus diabetik periode Januari sampai Desember 2014. Menurut penelitian sampel di Poliklinik RSUP Prof. Dr. R. D Kandou Manado 2013 didapatkan hasil pola bakteri pada ulkus diabetikum yaitu *Proteus mirabilis* (11,1%). Berdasarkan penelitian dari Dercoli, dkk (2008) di Rumah Sakit Dr. M. Djamil Padang didapatkan bahwa bakteri patogen terbanyak adalah *Proteus mirabilis* (25,6%).

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

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

Di Indonesia terdapat berbagai jenis tumbuhan obat, lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat tersebar di seluruh negara ini. Seribu jenis tanaman telah terdata dan baru sekitar 300 tanaman yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan secara tradisional. Penggunaan tanaman sebagai bahan obat tradisional memerlukan penelitian ilmiah untuk mengetahui khasiatnya dan digunakan sebagai sumber senyawa untuk sintesis senyawa obat baru (Akbar, 2010).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang memiliki kandungan senyawa bioaktif berupa flavonoid, tannin dan saponin (Kuntorini, dkk., 2013). Daun kersen merupakan salah satu bagian tanaman yang berkhasiat menyembuhkan berbagai penyakit yaitu sebagai obat sakit kuning dan batuk (Nurhasanah, 2012). Dapat juga mengurangi pembengkakan kelenjar prostat dan dimanfaatkan sebagai antiseptik, antioksidan, antimikroba, dan anti inflamasi (mengurangi radang), antidiabetes, dan antitumor (Arum, dkk., 2012).

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Ratnasari (2017) menyatakan bahwa hasil dari skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol daun kersen diketahui ekstrak tersebut mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan steroid. Pada saat ini diketahui bahwa senyawa saponin dan flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Khasanah, dkk., 2011).

Ekstrak metanol daun kersen memiliki zona hambat dengan rata-rata 2,118 cm² terhadap *Staphylococcus aureus* dan 1,682 cm² terhadap *Escherichia coli*. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol daun kersen terhadap *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 15%, sedangkan pada nilai Konsentrasi Hambat Minimum terhadap *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 25%. Pada penelitian mengenai ekstrak daun kersen juga dilakukan sebelumnya oleh Handayani (2016) tentang zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan diameter daerah hambat 14 mm pada konsentrasi 9 ppm, dengan kontrol positif kloramfenikol memiliki rata-rata zona hambat 34,25 mm.

Peneliti sebelumnya pernah melakukan uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada penelitian tersebut digunakan pelarut metanol pada proses ekstraksinya, namun terdapat kekurangan terhadap penggunaan pelarut metanol itu sendiri yaitu sifatnya mudah terbakar dan beracun. Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 96% karena pelarut tersebut dapat digunakan sebagai desinfektan, pembersih luka dan dapat mencegah terjadinya infeksi. Mengingat *Enterobacteriaceae* dan *Proteus mirabilis* termasuk bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada ulkus dan berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang uji aktivitas ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang ada, didapatkan rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak daun kersen memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis*?
2. Berapa konsentrasi terkecil dari ekstrak etanol daun kersen yang mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis* ?
3. Apakah ada konsentrasi ekstrak daun kersen yang memiliki kemampuan penghambatan yang sama dengan kontrol positif Gentamycin 10 μ g?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, didapatkan tujuan pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis*.
2. Untuk menemukan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis*.
3. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun kersen yang memiliki kemampuan penghambatan yang sama dengan kontrol positif Gentamycin 10 μ g?

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat:

1. Dapat membuktikan kemampuan antibakteri dari ekstrak etanol daun kersen sehingga dapat memberikan perkembangan ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan dalam upaya perkembangan obat tradisional.
2. Dapat mendapatkan informasi pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku obat yaitu dari tanaman daun kersen yang berfungsi sebagai antibakteri.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental mengenai efek antibakteri ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis* pada infeksi ulkus diabetikum.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat untuk ekstraksi terdiri dari: timbangan analitik, spatula, erlenmeyer, botol maserasi, alumunium foil, corong, labu evaporator, cawan penguap, kaca arloji, pipet, blender, dan alat-alat gelas standar laboratorium.

Alat untuk uji antibakteri terdiri dari: Erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, jarum ose, kapas lidi, pinset, mikropipet dan tip (Eppendorf), pembakar spiritus, kapas steril, vortex (Labnet), *hot plate* dan *magnetic stirrer*, oven, lemari pendingin, Biological Safety Cabinet, inkubator, cakram kosong steril dan jangka sorong.

2. Bahan

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang diperoleh dari daerah Boyolali, etanol 96%, asam klorida, larutan HCl, larutan dragendorf, larutan Wagner, larutan Mayer,

anhidrida asetat, serbuk Mg, H₂SO₄ pekat, standar Mc. Farland no. 0,5, *Nutrient Agar* (NA) Oxoid, *Kigler Iron Agar* (KIA), *Sulfide Indol Motilitas* (SIM), *TSIA (Triple Sugar Iron Agar)* Citrat, *Nutrient Borth* (NB) Merck KgaA, antibiotik cakram Gentamicyn, kontrol negatif DMSO 10%, aquadest steril (H₂O), NaCl fisiologis 0,9%. Bakteri yang digunakan antara lain: *Escherichia coli* ESBL pada infeksi ulkus diabetikum yang diperoleh dari RS X di Surakarta dan *Proteus mirabilis* yang diperoleh dari Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

C. Variabel Penelitian

Variabel Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri yaitu :

1. Variabel Bebas

Konsentrasi ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

2. Variabel Tergantung

Diameter zona radikal yang dihasilkan terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis* dari ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

3. Variabel Terkendali

Media pertumbuhan bakteri, bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis*, lama inkubasi, dan suhu inkubasi.

D. Definisi Operasional

1. Ekstrak kental daun *Muntingia calabura* L. adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan metode remaserasi menggunakan etanol 96% lalu dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental yang tidak mengandung cairan pelarut lagi dan dengan kadar etanol 0% yang berarti tidak lebih dari 5%.
2. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis* adalah diameter zona radikal di mana bakteri tersebut tidak tumbuh di sekitar cakram yang ditandai dengan adanya daerah bening yang diukur dengan satuan milimeter. Hasil tersebut dapat dilihat setelah diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C, berdasarkan konsentrasi terendah dibandingkan dengan kontrol negatif DMSO 10% dan kontrol positif Gentamycin 10 µg yang ditandai dengan berkurangnya pertumbuhan bakteri pada media agar.
3. Ekstrak etanol daun kersen dikatakan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis* jika hasil diameter zona hambatnya berbeda bermakna dengan diameter zona hambat dari kontrol negatif yaitu DMSO 10%.

E. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi sampel dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar yang diinginkan. Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti

dapat dihindari. Determinasi tanaman di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Penyiapan bahan

Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) yang telah dikumpulkan dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci di bawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan. Daun kersen tersebut selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu $50\pm 3^{\circ}\text{C}$ sampai kadar air kurang dari 10%. Daun yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan diblender kemudian diayak menggunakan saringan berukuran 60 mesh (Hasim, 2019).

3. Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Pertama simplisia kering daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dihaluskan sehingga menjadi serbuk halus. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan perbandingan bahan dan pelarut etanol 96% yaitu 1 : 10. Serbuk daun kersen sebanyak 200 gram direndam dengan etanol 96% sebanyak 2250 mL selama 3 hari dan diaduk setiap 1x24 jam. Setelah 3 hari dilakukan penyaringan menggunakan kain flannel. Filtrat yang diperoleh disimpan dalam wadah yang sesuai. Ampas dimaserasi kembali menggunakan etanol 96% sebanyak 750 mL selama 2 hari. Setelah 2 hari dilakukan penyaringan menggunakan kain flannel. Filtrat yang diperoleh dicampurkan dengan filtrat yang pertama dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C dan di atas penangas air sampai diperoleh ekstrak kental (Ibrahim, dkk, 2014).

4. Penapisan fitokimia

a. Alkaloid

Ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol diujikan dengan uji Mayer (+ endapan putih), kemudian uji Wagner (+ endapan coklat) dan uji Dragendroff (+ endapan merah kecoklatan) (Alamsyah, 2014).

b. Flavonoid

Ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol direaksikan dengan HCl dan serbuk Mg (+ berwarna merah) (Alamsyah, 2014).

c. Saponin

Ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol direaksikan dengan aquadest 10mL kemudian dikocok selama kurang lebih 30 detik (+ terbentuknya buih) (Alamsyah, 2014).

d. Tannin

Ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol direaksikan dengan larutan FeCl₃ (+ warna biru kehitaman) (Simaremare, 2014).

e. Triterpenoid atau Steroid

Ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol direaksikan dengan uji Liebermann Burchard (3 tetes asetat anhidrat dan 1 tetes larutan H₂SO₄) hasilnya (+ warna hijau tua kebiruan) (Arum., *et al*, 2012).

5. Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan untuk pemeriksaan mikrobiologi terlebih dahulu disterilkan sebelum digunakan untuk menghindari terjadinya kontaminasi dalam pengujian. Pertama, alat-alat yang akan digunakan didetoks terlebih

dahulu lalu dikeringkan. Selanjutnya alat yang telah didetoksifikasi bersama dengan bahan media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat yang disterilkan menggunakan autoklaf biasanya alat-alat yang terbuat dari kaca seperti tabung reaksi, erlenmeyer dan cawan petri. Alat yang lain dapat disterilisasi dengan dipijarkan pada lampu bunsen atau dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan dilewatkan di api bunsen (Kulla, 2016).

6. Karakterisasi bakteri

a. Pewarnaan Gram

1. Dibuat preparat dari biakan kuman pada media MCA dan EMBA.
2. Preparat ditetesi dengan cat Gram A Kristal Violet. Dibiarkan selama 1 menit. Zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir.
3. Preparat ditetesi dengan cat Gram B lugol iodine. Dibiarkan selama 1 menit. Zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir .
4. Preparat ditetesi dengan cat Gram C alkohol. Dibiarkan selama 30 detik lalu segera dibuang.
5. Preparat ditetesi dengan cat Gram D safranin. Dibiarkan selama 1 menit. Zat warna dibuang dan dicuci dengan air mengalir.
6. Preparat dikeringkan.
7. Diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100×.
8. Dicatat hasil pengamatan.

b. Inokulasi bakteri pada media *Mac Conkey*

1. Kuman yang telah digoreskan pada media *Mac Conkey* Agar (MCA) dan *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
2. Diamati pertumbuhan koloni pada media.
3. Hasil pertumbuhan koloni dicatat.

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 (*Methyl 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 positif 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.

7. 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).

8. Uji pemastian bakteri *Escherichia coli* ESBL

Pengujian konfirmasi ESBL pada bakteri *Escherichia coli* penghasil ESBL menggunakan metode difusi cakram berdasarkan panduan dari *Clinical and Laboratory standar institute* (CLSI) (CLSI, 2019). Bakteri digoreskan pada Mueller Hinton Agar (MHA) sampai seluruh permukaan cawan petri tertutup kertas cakram yang berisi antibiotik diletakkan di atas media agar MHA dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Antibiotik yang digunakan dalam penelitian adalah Ceftazidime dan Cefotaxime.

9. Uji antibakteri ekstrak etanol daun kersen terhadap bakteri uji

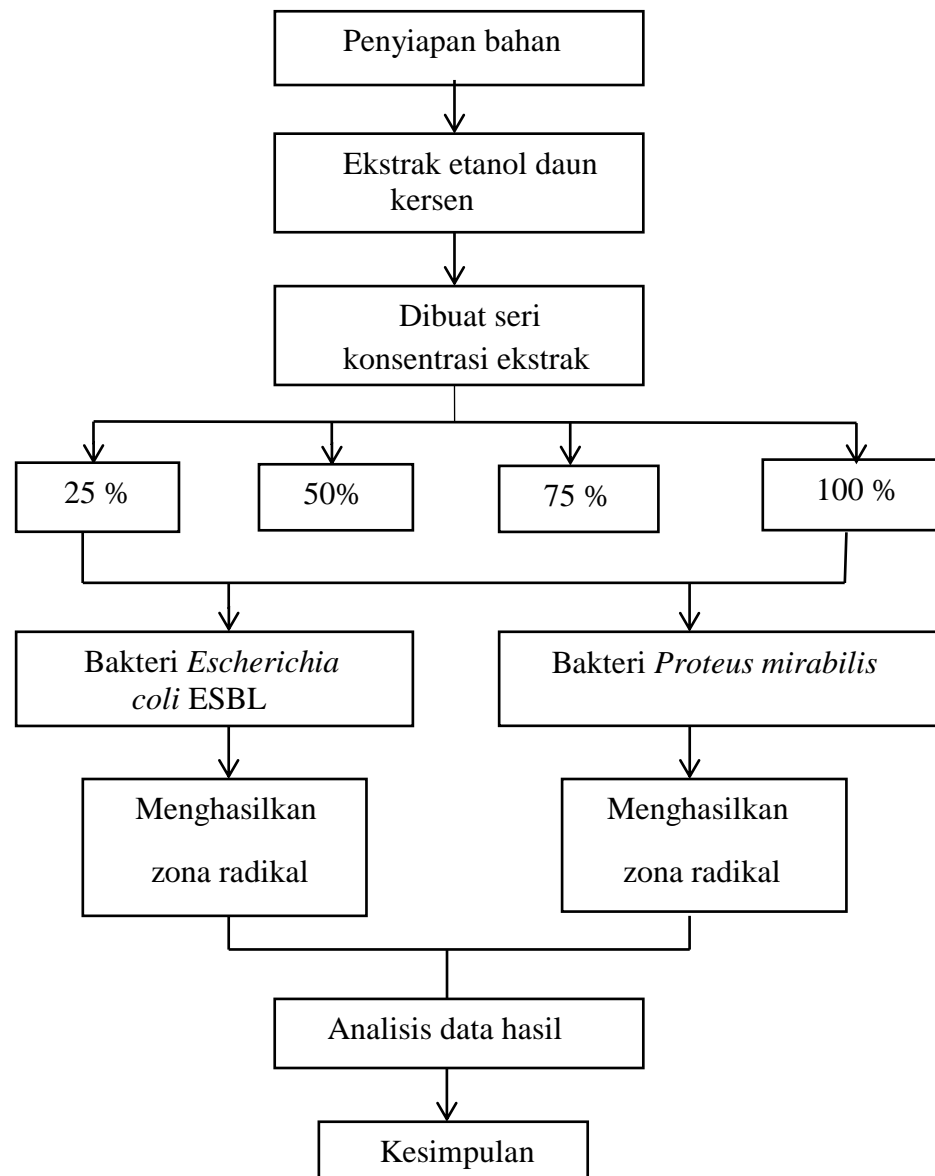
Media agar NA yang telah disterilkan dimasukkan kedalam cawan petri steril masing-masing sebanyak 10 mL dan dibiarkan memadat pada suhu kamar. Media tersebut ditetesi dengan 100 μ L suspensi bakteri uji dan diratakan dengan menggunakan kapas lidi steril sampai rata dan kering. Kertas cakram steril dengan diameter 6 mm ditetaskan ekstrak etanol 96% daun kersen (*Muntingia calabura* L.) sebanyak 10 μ L dengan masing-masing konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%, kemudian diletakkan pada media agar padat yang telah ditetesi 100 μ L suspensi bakteri uji. DMSO 10% sebagai kontrol negatif, dan kertas cakram gentamicyn sebagai kontrol positif, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan setelah diinkubasi diukur zona hambat yang terbentuk yang ditandai dengan adanya zona bening menggunakan jangka sorong (Prayoga, 2013).

F. Analisis Data

Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis* data diameter zona hambatnya dapat dilihat dari hasil uji statistik *One Way Anova* menggunakan aplikasi SPSS. Uji ANOVA dilakukan atas dasar asumsi bahwa data berdistribusi normal dan variansi data homogen. Jika $p < 0,05$ (ada beda nyata) pada uji ANOVA, maka analisis dilanjutkan uji Duncan. Jika $p < 0,05$ (tidak ada beda nyata) pada *Homogeneity of Variance* variansi data tidak homogen, maka analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *K-Independent* sampel (Febrianasari, 2018).

G. Alur Penelitian

A. Bagan Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Ekstrak etanol daun kersen memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Proteus mirabilis*.
2. Ekstrak etanol daun kersen pada konsentrasi 100% telah mampu menghambat *Escherichia coli* ESBL dengan diameter rata-rata 13,8 mm $p=0,002$ dan pada konsentrasi 100% telah mampu menghambat *Proteus mirabilis* dengan diameter rata-rata 15,2 mm dengan nilai $p=0,000$, yang berarti ($p<0,05$) berbeda bermakna dengan kontrol negatif DMSO 10%.
3. Tidak ada konsentrasi ekstrak daun kersen yang memiliki kemampuan penghambatan yang sama dengan kontrol positif Gentamycin 10 μ g dengan diameter rata-rata pada *Escherichia coli* ESBL sebesar 15,66 dan pada *Proteus mirabilis* sebesar 23,77 mm.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas antibakteri fraksi-fraksi dari ekstrak etanol daun kersen untuk mengeksplorasi potensi daya antibakteri dari fraksi-fraksi ekstrak etanol daun kersen dan menemukan fraksi yang paling berpotensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, P., Noorhamdani, A. S., & Irene, G. C., 2010, Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Secara in vitro, *Tesis*, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Affif, F.E. dan Amilah, S., 2017, Efektivitas ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Stigma Journal and Science*, 10(1): 12-16.
- Aisyah Zirconia, Nunung Kurniasih, Vina Amalia, 2015, Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser, *Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, Vol(2), No 1.
- Akbar, B., 2010, Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas, *Adabia Press* pp 6-7. Jakarta.
- Alamsyah, H. K., Ita W., Agus S, 2014, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Sargassum cinereum (J.G.Agaradh) Dari Perairan Pulau Panjang Jepara Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*, *Journal Of Marine Research*, 3 (2) : 69-78.
- Alexiadou, K., Doupis, J., 2012, *Management of Diabetic Foot Ulcers*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- Alias. M, j., 2013, *Saponins as agents preventing infection caused by common waterborne pathogens*. Presented to the Faculty of the Graduate School of The University of Texas at Arlington in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of DOCTOR OF PHILOSOPHY THE UNIVERSITY OF TEXAS AT ARLINGTON.
- Al-Jasser. AM., 2006, *Extended-spectrum betalactamases (ESBLs): a global problem*, *Kuwait Medical Journal* 38, 171-185.
- Amanto B. S., Siswanti dan Angga A., 2015, Kinetika Pengeringan Temu Giring (*Curcuma heyneana* Valetton & van Ziiip) Menggunakan Cabinet Dryer dengan Perlakuan Pendahuluan *Blanching*, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, <https://jurnal.uns.ac.id/ilmupangan/article/view/12900>.
- Andrews, Jennifer M., 2001, Determination of Minimum Inhibitory Concentration, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48, Suppl. S1, 5-16.

- Anggriawan.F., Endriani R., Sembiring LP.,2014, Identifikasi bakteri batang gram negatif penghasil *extended spectrum -lactamase* (ESBL) dari ulkus diabetikum derajat I dan II Waigner di bangsal penyakit dalam RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Riau.
- Arum, Supartono, Sudarmin., 2012, Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal MIPA* 35 (2):165-174.
- Arwin, M., F. G. Ijong, dan R. Tumbol., 2016, Characteristics of *Aeromonas hydrophila* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic science & management*, 4(2):58.
- Atikah, N., 2013, Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum L*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*,*Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Aztal Z., Sharif FA., Abdallah SA., Fahd MI., 2004, Extended spectrum beta lactamases in *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infection in the Gaza Strip, *Palestina. Ann Saudi Med* 24, 55-57.
- Binawati, D. K., dan Amilah, S., 2013, Effect of Cherry Leaf (*Muntingia calabura L.*) Bioinsecticides Extract Towards Mortality of Worm Soil (*Agrotis ipsilon*) and Armyworm (*Spodoptera exiqua*) on Plant Leek (*Allium fistolum*),*Wahana*, 61(2): 51-57.
- Brink, B., 2013, *Urease test Protocol. American society for microbiology*. 5 Juli 2020).
- Brooks, G.F., Butel, J.S., and S.A. Morse., 2008, Jawetz, Melnich JL, Adelberg,s EA. *Mikrobiologi Kedokteran*. 20th Ed. Salemba Medika, Jakarta.
- Burall LS., Harro JM., Lockatell CV., Himpst SD., Hebel JR., Johnson DE., Mobley HLT., 2004, *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection: identification of 25 signature-tagged mutants attenuated at least 100-fold, *Infect Immun* 72:2922-2938.
- Cappucino, J. G., & Sherman, N., 2014, *Manual Laboratorium Mikrobiologi*, Edisi 8, Jakarta, EGC.
- Chang, R, 2007, *Chemistry Ninth Edition*, New York: Mc Graw Hill.
- Chaudhary, U., Aggarwal R., 2004, *Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL) – An Emerging Threat to Clinical Therapeutics*, *Indian Journal of Medical Microbiology*.

- Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI), 2017, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI), 2019, *M100 Performance Standards for Antimicrobial*, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cushnie, T. P. & Lamb, A. J., 2005, Antimicrobial activity of flavonoids, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
- Dakh F., 2010, Mutation frequency of non ESBL phenotype SENTRY (AsiaPacific) Isolates of *Klebsiella Pneumoniae* Conversion to an ESBL Positive Phenotype, *Queensland University of Technology School of Life Sciences*. 305-11.
- Decoli E., Karimi J., Manaf A., Syahbuddin S., 2008, Profil Ulkus Diabetik pada Penderita Rawat Inap di Bagian Penyakit Dalam RSUP Dr M. Djamil Padang, *Majalah Kedokteran Indonesia*, 58 : 1 : 3-7.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008, *Pengujian Mikrobiologi Pangan.*, <http://www.pikiran-rakyat.com>. Diakses pada tanggal 17 Desember 2019.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Dewi, R. C., 2004, Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.), Skripsi, Fakultas MIPA UNS, Surakarta.
- Diniatik, 2015, Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f&Th) Dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(1):1-5.
- Ditjen POM. 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan Pertama, Departemen Kesehatan RI. Halaman 3-5, 10-11, Jakarta.
- 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*.
- Dyozem, J. P., Hamamoto, H., Ngameni, B., Ngadjui, B. T., dan Sekimizu, K., 2013, *Antimicrobial Action Mechanism of Flavonoids from Dorstenia species*, *Drug Discoveries & Therapeutics*, 7(2): 66-72.

- Eko Prayoga., 2013, Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Engelkirk PG., Burton GRW., 2004, *Burton's Microbiology for the health sciences. 8 th edition*, Lippincott Williams dan Wilkins, Philadelphia.
- Febrianasari. F., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Gendlina I. Gutman DM., Thomas V., Collins CM., 2002, Ureadependent signal transduction by the virulence regulator UreR, *J Biol Chem* 277:37349-37358.
- Greenwood, D., Slack., R.C.B., Peutherer J.F., dan Barer M.R., 2007, *Medical Microbiology: A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control*, Elsevier Health Sciences, UK Hal 261-265.
- Gunawan, I W. G., Gede Bawa, I G. A., Sutrisnayanti, N. L., 2008, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn), *Jurnal Kimia*, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana.
- Handayani, V., 2016, Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat, Universitas Muslim Indonesia, Makassar.
- Hardjoeno, H., dkk., 2007, *Interprestasi hasil tes laboratorium diagnostik*, Hasanuddin University Press (LEPHASS), Makassar.
- Hongdiyanto, A., Yamlean P., dan Supriati HS., 2013, Evaluasi Kerasionalan Pengobatan Diabetes Mellitus Tipe 2 Pada Pasien Rawat Inap di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado, *Skripsi*, Manado.
- Ikmalia., 2008, *Analisa profil protein isolat escherichia coli S1 hasil iradiasi sinar gamma*, Fakultas Sains Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Ismail, D., 2012, Uji Bakteri *Escherichia coli* Pada Minuman Susu Kedelai Bermerek dan Tanpa merek di kota Surakarta, *Naskah publikasi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Isnarianti, R., Ivan A., Wahyudi, Rini M, dan Puspita, 2013, *Muntingia calabura* L. Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*, *J Dent Indonesia*, p. 59-63.
- ITIS (*Integrated taxonomic information system*), 2011, Taxonomic Hierarchy: *Muntingia calabura* Lam., <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?searchtopic=TSN&searchvalue=21503#null>, 18 Januari 2020.
- Jansen, A. M., C. V. Lockatell, D. E. Johnson, and H. L. Mobley., 2003, Visualization of *Proteus mirabilis* morphotypes in the urinary tract: the elongated swarmer cell is rarely observed in ascending urinary tract infection, *Infect Immun*, 71:3607–3613.
- Kali Kulla, P.D., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Bawang Lanang (*Allium sativum* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S aureus* dan *E coli*, *Skripsi*, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Katzung BG, 2010, *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 10*, Jakarta: EGC.
- Kemenkes RI, 2013, *Riset Kesehatan Dasar*, RISKESDAS, Jakarta.
- Kemenkes, 2011, *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik, 4-5*, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Khasanah, Retno Atun, dkk., 2011, Pemanfaatan Ekstrak *Sereh* (*Chymbopogon nardus* L.) sebagai Alternatif Antibakteri *Staphylococcus epidermidis* pada Deodoran Parfume spray, *Skripsi*, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Kholifaturrokhmah, I., Purnawati, R., 2016, Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia Calabura* L.) Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Balb/C Yang Hiperurisemia, *Jurnal Kedokteran Diponegoro Volume 5, Nomor 3*.
- Kuntorini, E.M., Fitriana, S., dan Astuti, M., 2013, *Struktur Anatomi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (Muntingia calabura)*, *Prosiding Semirata*, FMIPA Universitas Lampung, Lampung.
- Kurniawan, A., 2011, *Proteus mirabilis*, (online), (<http://www.scribd.com/doc/49762885/proteus-mirabilis>, diakses tanggal 12 Desember 2019).
- Kuwahara, H., Miyamoto, Y., Akaike, T., Kubota, T., Sawa, T., Okamoto, S., Maeda, H., 2000, *Helicobacter pylori* urease suppresses bactericidal activity

of peroxy nitrite via carbon dioxide production, *Infect Immun*, 68:4378–4383.

Laswati, D. T., Sundari, N. R I., dan Anggraini, 2017, Pemanfaatan kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai alternatif produk olahan pangan: sifat kimia dan sensoris, *Jurnal JITIPARI*, Vol. 4: 127-134.

Leboffe, Pierce, 2011, *A Pthographic Atlas for the Microbiology Laboratory*, Moton Publishing Company, 4 th Edition . pp 207-217.

Lim, T. K., 2012, *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plant*, London New York: Springer Dordrecht Heidelberg, 489-491.

Lukhmanul M, Chylen A., 2018, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, EGC, Semarang.

Machfud Ibrahim, Putri Avnita, Muhammad, Nurul A., Leliana, S.D.P., 2014, *Efektifitas Ekstrak Daun Belimbing Wuluh Sebagai Bahan Inhibitor Korosi Pada Kawat Ortodonti*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jember.

Marliana, S. D., Suryanti, V., Suryono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimis Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi*, vol. 3, no. 1, pp. 26-31.

Meiliza, E.R., dan Hariyatmi., 2013, Pengaruh jus buah Kersen terhadap kadar asam urat, *Skripsi*.

Misnadiarly, 2006, *Diabetes Mellitus Gangren, Ulcer, Infeksi, Mengenal gejala, Menanggulangi, dan Mencegah komplikasi*, Pustaka Obor Populer, Jakarta.

Morton, J., F., 1987, Fruit of Warm Climates “Jamaica Cherry”. http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/jamaica_cherry.html.
Desember 2019.

Mukhriani, 2014, Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2):36-367.

Nurhasanah, N., 2012, Isolasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura Linn*), *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jenderal Ahmad Yani, Cimahi.

Nuria, MC., Faizatun, A., Sumantri, 2009, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus*

aureus ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella thypi* ATCC 1408, *Jurnal Ilmu-Ilmu Petanian*, 5(2): 26-37.

Mufida, D. C., E. Suswati, S. S., Wahyudi, dan A. Kurniawan., 2010, 45kDa fimbria protein of *Proteus mirabilis* as hemagglutinin and adhesion protein, *Folia Medica Indonesia*, 46(2): 88-94.

Ngajow, M., Abidjulu, J. Dan Kamu; V. S., 2013, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro, *Jurnal MIPA Unsrat*, 2(2): 128-132.

Nguyen, HT, 2008, *Bacterial of The Genitourinary Tract*, Smith's General Urology 17 th ed, Newyork: McGraw Hill Companies. 193-5.

Noorhamdani, Yosef dan Rosalia., 2014, *Uji Ekstrak Daun Kersen (Muntingia calabura) Sebagai Antibakteri Terhadap Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Secara in Vitro*, Laboratorium Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang.

Paterson, David L., Bonomo, Robert A., 2010, *Extended-Spectrum β -Lactamases : a Clinical Update. Clinical Microbiology Review vol 18 pp:657-686* (<http://cmr.asm.org/cgi/content/full/18/4/657>, diakses tanggal 12 Desember 2019).

PERKENI, 2011, *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*, PERKENI, Jakarta.

Prayoga, E., 2013, Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Tesis*, 1-33, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.

Purwoko, T., 2007, *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara. Jakarta.

Putri, WS., Waditariani, NK., Larasaty, LP, 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis, *Artikel Ilmiah*, Bali: Universitas Udayana.

Ratnasari, Monica., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dalam bentuk Sediaan Gel terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Skripsi*, Fakultas Teknik Biologi Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.

Radji, Maksu., 2010, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Jakarta: EGC.

- Rahayu, SA dan Muhammad, HG, 2017, Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *IJPST*, 4(2):50-56.
- Rosandari, T., Thayib, M. H., Krisdiawati, N., 2011, Variasi penambahan gula dan lama inkubasi pada proses fermentasi Cider Kersen (*Muntingia calabura L.*), Program Studi Teknologi Industri Pangan.
- Sardiani, N., Litaay, M., Budji, RG., Piosambodo, D., Syahribulan and Dwyana, Z, 2015, Potensi Tunikata *Rhopaleae* sp Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri; 1. Karakterisasi Isolat, *Journal Alam dan Lingkungan*, 6(11):1-10.
- Severin J.A., Mertaniasih N.M., Kuntaman K., Lestari E.S., Den Toom N.L., *et al*, 2010, Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Surabaya, Indonesia, *Antimicrob. Chemother*;65(3): 465-469.
- Sholikhatin, Eny., dkk., 2014, *Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia calabura L.) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri Streptococcus agalactiae pada Sapi Perah di Daerah Ngantang, Malang* (online).fapet.ub.ac.id/wp-content/uploads/2014/06/Jurnal-_Eny-S_.pdf, diakses tanggal 12 Desember 2019.
- Simaremare, dkk, 2014, *Formulasi dan evaluasi daun gatal (Laportea decumana (Roxb.) Wedd) sebagai kandidat antinyeri*, Tanaman Obat Indonesia.
- Simatupang, M., 2011, *Enterobacteriaceae*, (online), (<http://ebookbrowse.com/bbc215-slide-enterobacteriaceae-pdf-d74882414>), diakses tanggal 12 Desember 2019).
- Stickler, D., Hughes, G., 1999, Ability of *Proteus mirabilis* to swarm over urethral catheters, *J Clin Microbiol Infect Dis* 18:206–208.
- Sudirman, T., A., 2014, Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, *Skripsi S1*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Sukadana, I. M., 2010, Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-Awar (*Ficus septica* Burm F), *Jurnal Kimia*, 4(1): 63-70.
- Sulaiman, A. Y., 2017, Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura Linn*) Terhadap Koloni *Streptococcus viridans*, *Skripsi*, Universitas Jember.

- Sulistiyowati, D. A., 2015, Efektivitas Elevasi Ektrimitas Bawah Terhadap Proses Penyembuhan Ulkus Diabetik di Ruang Melati RSUD Dr. Moewardi Tahun 2014, *Kosala*, Vol: 3, No: , Hal: 83-88.
- Sunarni, T., Pramono, S.,& Asmah, R., 2007, Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.), *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 111 - 116.
- Susi R, Muhamad G., 2017, Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *Jurnal farmasi akademi bumi farmasi Siliwangi*, Volume 4, Nomor 2.
- Syahfitriah, N, 201, *Profil Bakteri dan Sensifitas Antibiotik pada Ulkus Kaki Diabetik di Rumah Sakit Umum Anuputra Palu*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tadulako, Palu.
- Talaro, K. P., 2005, *Foundation in Microbiology Basic Principles, Fifth Edition*, Mc Graw Hill Higher Education, USA.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G. & Kaur H., 2011, Phytochemical Screening And Extraction: A Review, *International Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 98-106.
- Trifani., 2012, Ekstraksi pelrut cair-cair, <http://awjee.blog.com/2012/11/24/ekstraks-pelrut-cair-cair/>., Diakses pada tanggal 22 Agustus 2020.
- Waluyo dan Lud, 2010, *Mikrobiologi Lingkungan*, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang Press.
- Watson, Rachel, 2012, *Sulfur Indole Motility Media (SIM)*, Available, (16 Juli 2020).
- Whittam, T.S.,et. al., 2011, Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *J. Clin. Invest.*107;539–548.
- Winarto, 2009, Prevalensi Kuman ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) dari Material darah di RSUP Dr. Kariadi Tahun 2004-2005, *Media Medika Indonesia*, Vol. 43 No: 260-268.
- Zahroh, R., 2016, Pemberian Rebusan Daun Kersen Menurunkan Kadar Glukosa Darah Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 (Influence Of The Cherry Decoction Leaves Decrease In Blood Glucose Levels), *Journals of Ners Community* .
- Zaidah, 2005, *Penatalaksanaan Ulkus Diabetikum*, EGC, Jakarta.

Zimro, MJ., Power, DA., Miller, SM., Wilson, GE., Johnson, JA, 2009, *Difco and BBL Manual of Microbiology Culture Media. United States* Becton, Dickinson and Company.