



**Y A Y A S A N P E R G U R U A N C I K I N I
I N S T I T U T S A I N S D A N T E K N O L O G I N A S I O N A L**

Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640 Telp. (021) 727 0090, 787 4645,
787 4647 Fax. (021) 786 6955, <http://WWW.istn.ac.id> E-mail: rektorat@istn.ac.id

SURAT PENUGASAN TENAGA PENDIDIK

Nomor : 151/03.1-H/III/2024

SEMESTER GENAP TAHUN AKADEMIK 2023/2024

N a m a : Fathin Hamida, S.Si, M.Si. **Status** : Tetap.
Nik : 01.161376 **Program Sarjana Prodi Farmasi**
Jabatan Akademik : AA

Untuk melaksanakan tugas sebagai berikut:

Bidang	Perincian Kegiatan	Tempat	Jam/ Minggu	Kredit (SKS)	Keterangan
I PENDIDIKAN DAN PENGAJARAN	MENGAJAR DI KELAS (KULIAH/RESPONSI DAN LABORATORIUM)				
	Farmakognosi 2 (A)	Ruang HC-6		2	Kamis, 13:00-14:40
	Bioteknologi Farmasi (B)	Ruang HC-4		2	Selasa, 08:00-09:40
	Bioteknologi Farmasi (L)	Ruang HC-6		2	Senin, 17:00-18:40
	Parasitologi (A)	Ruang HC-7		2	Selasa, 08:00-09:40
	Parasitologi (C)	Ruang HC-8		2	Kamis, 13:00-14:40
	Praktikum Farmakognosi (C)	Laboratorium		1	Selasa, 10:00-13:00
	Bimbingan Skripsi			3 Jam/Minggu	1
	Menguji Tugas Akhir			3 Jam/Minggu	1
II PENELITIAN	Penulisan Karya Ilmiah		3 Jam/Minggu	1	
III PENGABDIAN DAN MASYARAKAT	Pelathan dan Penyuluhan		3 Jam/Minggu	1	
IV UNSUR UNSUR PENUNJANG	Pertemuan Ilmiah		3 Jam/Minggu	1	
	Jumlah Total			16	

Kepada yang bersangkutan akan diberikan gaji/honorarium sesuai dengan peraturan penggajian yang berlaku di Institut Sains dan Teknologi Nasional
Penugasan ini berlaku dari tanggal 01 Maret 2024 sampai dengan tanggal 31 Agustus 2024

Tembusan :

1. Wakil Rektor Bidang Akademik - ISTN
2. Wakil Rektor Bidang Sumber Daya - ISTN
3. Ka. Biro Sumber Daya Manusia - ISTN
4. Kepala Program Studi Farmasi Fak. Farmasi
5. Arsip

FAKULTAS FARMASI
Jakarta, 01 Maret 2024
Dekan

(Dr. apt. Fiah Rachmatiah, M.Si)

BUKTI KINERJA PUBLIKASI ILMIAH

TA. GENAP 2023/2024

(SK PENUGASAN DAN ARTIKEL PUBLIKASI ILMIAH)



NAMA: FATHIN HAMIDA, S.SI., M.SI

NIDN: 0326118605

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL

Aktivitas Inhibitor Lipase Ekstrak Daun Mangga Arum Manis dan Mangga Kweni Secara *In Vitro*

Oktira Roka Aji, Nora Bastiani, Merlia Rahma Tari, Diah Asta Putri
10.15408/kauniyah.v17i1.18776

Pengaruh Pemberian Jus Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Kualitas Sperma dan Histologi Testis Tikus Wistar

Haris Setiawan, Roby Ahmad Subagja
10.15408/kauniyah.v17i1.23216

Struktur Anatomis dan Uji Histokimia Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (Web.) Britton & Rose)

Lily Atiqah Husna, Laurentius Hartanto Nugroho
10.15408/kauniyah.v17i1.23602

Studi Etnobotani Pemanfaatan Zingiberaceae Oleh Masyarakat Melayu di Pulau Rupa, Kabupaten Bengkalis, Riau

Nurul Hafizah, Fitmawati
10.15408/kauniyah.v17i1.24374

Keragaman Lima Aksesi Jawer Kotok (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.) Berdasarkan Morfologi dan Marka RAPD

Tias Arlianti, Nur Laela Wahyuni Meilawati, Rubi Heryanto, Susi Purwiyanti
10.15408/kauniyah.v17i11.25556

Biometrik dan Kematangan Gonad Ikan Selar Kuning (*Selaroides leptolepis* Cuvier, 1833) Pada Perairan Muara Badak, Kalimantan Timur

Jusmaldi, Karisma Dewi, Nova Hariani
10.15408/kauniyah.v17i1.27010

Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) Pada Pakan Terhadap Performa Ikan Bandeng (*Chanos chanos*)

Kartina, Ramli, Awaludin, Nurasmi
10.15408/kauniyah.v17i1.27374

***Colletotrichum* spp. Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum*) di Ciapus, Bogor, Jawa Barat**

Wartono, Wawan, Dwi Ningsih Susilowati, Sukamto, Jajang Kosasih
10.15408/kauniyah.v17i1.27460

Pengembangan Primer Diagnostik Menggunakan Penanda mat-K Secara *In Silico* untuk Mendeteksi Kelangkaan Jenis Tumbuhan Di Indonesia

Hanina Dzikrina, Topik Hidayat, Siti Sriyati
10.15408/kauniyah.v17i1.27538

Komposisi Pakan Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus* E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812) di Kebun Binatang Gembira Loka, Yogyakarta

Laurentia Henrieta Permita Sari Purba, Jeremia Frandy Apitalau, Guruh Prihatmo
10.15408/kauniyah.v17i1.27539

Perkecambahan Biji Anggrek *Grammatophyllum stapeliiflorum* Pada Media MS dengan Penambahan BAP Secara *In Vitro*

Iga Permata Hany, Zozy Aneloi Noli, Suwirman
10.15408/kauniyah.v17i1.27624

Keanekaragaman Makroinvertebrata di Sungai Kampai, Bengkulu

Abdul Rahman Singkam, Moh Aziz Pathori, Irwandi Ansori, Talib Chitheer
10.15408/kauniyah.v17i1.27892

Efektivitas Pertumbuhan dan Hasil Tanam Beberapa Kultivar Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) dengan Pemberian Polietilena Glikol (PEG) Untuk Simulasi Cekaman Kekeringan

Winda Anindya, Dian Palupi, Iman Budisantoso
10.15408/kauniyah.v17i1.29345

Kajian Morfologi dan Hubungan Panjang Dengan Berat Udang Mantis, *Harpiosquilla raphidea* (Fabricius, 1798)

Nurul Oktaviani, Winda Dwi Kartika, Tia Wulandari, Fitriya Shalehati
10.15408/kauniyah.v17i1.29345

Keragaman Kultivar Lokal Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) di Kabupaten Kutai Timur-Kalimantan Timur, Indonesia

Maysavitrie Citra Wijayanti Kristianto, Medi Hendra, Linda Oktavianingsih
10.15408/kauniyah.v17i1.30539

Uji Potensi Kurkumin Terhadap Perbaikan Disfungsi Testis Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba

Agung Janika Sitasiwi, Tyas Rini Saraswati, Silvana Tana, Sri Isdadiyanto, Siti Muflichatun Mardiaty
10.15408/kauniyah.v17i1.30801

Hubungan Kekerabatan Padi Lokal di Kecamatan Teluk Batang Kabupaten Kayong Utara, Kalimantan Barat Berdasarkan Karakter Morfologi

Lipia Apriliani, Siti Ifadatin, Elvi Rusmiyanto Pancaning Wardoyo
10.15408/kauniyah.v17i1.31057

Sitotoksitas dan Selektivitas Fraksi Kayu Batang Simpung Air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) Terhadap Sel Kanker Payudara

Eka Nurdiani, Masriani, Rahmat Rasmawan, Rini Muharini, Rody Putra Sartika
10.15408/kauniyah.v17i1.31299

Analisis Gen *tufA* Secara *In Silico* Untuk Primer Identifikasi Mikroalga Trebouxiophyceae

Megga Ratnasari Pikoli, Mahsa Nuraini Syahda, Festy Auliyaur Rahmah, Suharti
10.15408/kauniyah.v17i1.335458

Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) Pada Sistem Hidroponik *Deep Flow Technique* dengan Penambahan Pupuk Organik Cair

Dasumiati, Mutiara Marhaban Siregar, Ardian Khairiah, Junaidi
10.15408/kauniyah.v17i1.35563

Respon Pertumbuhan dan Produksi Padi (*Oryza sativa* L.) Pada Kombinasi Pupuk Organik Granular dan Anorganik

Ardian Khairiah, Sulyanah, Dasumiati
10.15408/kauniyah.v17i1.35754

Vegetasi Riparian dan Komunitas Makrozoobentos di Situ Gintung Sebagai Pendukung Konservasi Air Kawasan Kampus UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

Eny Supriyati Rosyidatun, Latifah Azzahra, Fahma Wijayanti, Walid Rumbat, Mardiansyah
10.15408/kauniyah.v17i1.35756

Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Karang Lunak *Nephthea* sp. Hasil Transplantasi Secara *In Situ* dan *Ex Situ*

Fahri Fahrudin, Dinda Rama Haribowo, Rahmi Karmila, Danang Aji Pangestu, Fathin Hamida
10.15408/kauniyah.v17i1.35781

Indeks Penulis

Abdul Rahman Singkam	124-133	Laurentius Hartanto Nugroho	21-31
Agung Janika Sitasiwi	164-175	Lily Atiqah Husna	21-31
Ardian Khairiah	213-220	Linda Oktavianingsih	155-163
Ardian Khairiah	221-230	Lipia Apriliani	176-190
Awaludin	70-80	Mahsa Nuraini Syahda	202-212
Danang Aji Pangestu	239-247	Mardiasyah	231-238
Dasumiati	213-220	Masriani	191-201
Dasumiati	221-230	Maysavitrie Citra Wijayanti	155-163
Diah Asta Putri	1-9	Kristianto	
Dian Palupi	134-144	Medi Hendra	155-163
Dinda Rama Haribowo	239-247	Megga Ratnasari Pikoli	202-212
Dwi Ningsih Susilowati	81-90	Merlia Rahma Tari	1-9
Eka Nurdiani	191-201	Moh Aziz Pathori	124-133
Elvi Rusmiyanto Pancaning	176-190	Mutiara Marhaban Siregar	213-220
Wardoyo		Nora Bastiani	1-9
Eny Supriyati Rosyidatun	231-238	Nova Hariani	57-69
Fahma Wijayanti	231-238	Nurasmi	70-80
Fahri Fahrudin	239-247	Nurul Hafizah	32-45
Fathin Hamida	239-247	Nurul Oktaviani	145-153
Festy Auliyaur Rahmah	202-212	Nur Laela Wahyuni Meilawati	46-56
Fitmawati	32-45	Oktira Roka Aji	1-9
Fitriya Shalehati	145-153	Rahmat Rasmawan,	191-201
Guruh Prihatmo	103-114	Rahmi Karmila	239-247
Hanina Dzikrina	91-102	Ramli	70-80
Haris Setiawan	10-20	Rini Muharini	191-201
Iga Permata Hany	115-123	Roby Ahmad Subagja	10-20
Iman Budisantoso	134-144	Rody Putra Sartika	191-201
Irwandi Ansori	124-133	Rubi Heryanto	46-56
Jajang Kosasih	81-90	Silvana Tana	164-175
Jeremia Frandy Apitalau	103-114	Siti Ifadatin	176-190
Junaidi	213-220	Siti Muflichatun Mardiaty	164-175
Jusmaldi	57-69	Siti Sriyati	91-102
Karisma Dewi	57-69	Sri Isdadiyanto	164-175
Kartina	70-80	Suharti	202-212
Latifah Azzahra	231-238	Sukamto	81-90
Laurentia Henrieta Permita Sari	103-114	Sulyanah	221-230
Purba		Susi Purwiyanti	46-56

Suwirmen	115-123	Walid Rumblat	231-238
Talib Chitheer	124-133	Wartono	81-90
Tias Arlianti	46-56	Wawan	81-90
Tia Wulandari	145-153	Winda Anindya	134-144
Topik Hidayat	91-102	Winda Dwi Kartika	145-153
Tyas Rini Saraswati	164-175	Zozy Aneloi Noli	115-123

Indeks Subyek

AB <i>mix</i>	213-220	Kekerabatan	176-190
Akresi	46-56	Keragaman	155-163
Aktivitas antioksidan	239-247	Komposisi pakan	103-114
Anatomi	21-31	Konservasi	103-114
Antispermatojenik	10-20	Kualitas sperma	10-20
Antraknosa	81-90	Kulit buah	21-31
Bandeng	70-80	Kultivar lokal	155-163
BAP	115-123	Kutai Timur	155-163
Bengkalis	32-45	Lutung Jawa	103-114
Biometrik ikan	57-69	Makroinvertebrata	124-133
<i>Brassica oleracea</i>	213-220	Makrozoobentos	231-238
Buah pare	10-20	Mangga arum manis	1-9
Cekaman	134-144	Mangga kweni	1-9
<i>Colletotrichum</i>	81-90	mat-k	91-102
Daun katuk	70-80	Media MS	115-123
Desain primer	91-102	Melayu	32-45
<i>Dillenia suffroctiosa</i> (Griff.)	191-201	Metabolit sekunder	21-31
Martelli		Metabolit sekunder	239-247
Disfungsi testis	164-175	Mimba	164-175
DNA <i>barcode</i>	91-102	Molekuler	81-90
Etnobotany	32-45	Morfologi	81-90
Genetik	46-56	<u>Morfologi</u>	145-153
<i>Grammatophyllum stapeliiflorum</i>	115-123	MTT <i>assay</i>	191-201
Hasil tanam	134-144	<i>Nephthea</i> sp.	239-247
Hidroponik	213-220	<i>Oryza sativa</i>	221-230
Hubungan kekerabatan	46-56	Padi lokal	176-190
<i>Hylocereus polyrhizus</i> (Web.)	21-31	Perairan Muara Badak	57-69
Britton & Rose		Perairan Tungkal 1	145-153
Indeks gonadosomatic	164-175	Perkecambahan	115-123
Inhibitor lipase pankreas	1-9	Pertumbuhan	70-80
Kanker payudara	191-201	Pertumbuhan	134-144
Karakter morfologi	155-163	Polietilena glikol	134-144
Karakter morfologi	176-190	Pola pertumbuhan	145-153
Karakteristik	46-56	Polimorfisme	46-56
Keanekaragaman	124-133	Pulau Rupert	32-45
Kebun Binatang Gembira Loka	103-114	Pupuk anorganik	221-230
Kedelai (<i>Glycine max</i>)	134-144	Pupuk organik	213-220

Pupuk organik granul (POG)	221-230	Tikus Wistar	10-20
<i>Scan sampling</i>	103-114	Tingkat kematangan gonad	57-69
Selar kuning	57-69	Transplantasi karang	239-247
Sitotoksik	191-201	Tumbuhan langka	91-102
Situ Gintung	231-238	Ubi jalar	155-163
Spesies	81-90	Udang mantis	145-153
Sungai Kampai	124-133	Uji histokimia	21-31
Teluk Batang	176-190	Vegetasi tepi Sungai	231-238
Testis	10-20	<i>Zingiberaceae</i>	32-45



IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KARANG LUNAK *Nephthea* sp. HASIL TRANSPLANTASI SECARA IN SITU DAN EX SITU

IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOFT CORAL *Nephthea* sp. IN SITU AND EX SITU TRANSPLANTATION

Fahri Fahrudin¹, Dinda Rama Haribowo², Rahmi Karmila¹, Danang Aji Pangestu³,
Fathin Hamida^{3*}

¹Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

²Pusat Laboratorium Terpadu, Fakultas Sains dan Teknologi-Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

³Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi-Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN)

*Corresponding author: fathinfarmasi@istn.ac.id

Naskah Diterima: 6 November 2023; Direvisi: 14 November 2023; Disetujui: 15 November 2023

Abstrak

Karang lunak (*Nephthea* sp.) menghasilkan metabolit sekunder di habitat aslinya dan dapat dikembangkan menjadi *marine natural product* (MNP). *Nephthea* sp. hasil transplantasi diharapkan juga menghasilkan metabolit sekunder yang sama. Tujuan penelitian ini adalah melakukan identifikasi metabolit sekunder secara kualitatif dan kuantitatif pada *Nephthea* sp. hasil transplantasi serta menguji aktivitas antioksidannya. Sampel *Nephthea* sp. berasal dari Taman Nasional Ujung Kulon (in situ) dan dari akuarium sebagai sampel transplantasi ex situ. Kedua sampel diekstraksi dengan maserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:3 (w/v). Identifikasi metabolit sekunder dilakukan secara kualitatif dan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk identifikasi kuantitatif. Aktivitas antioksidan menggunakan uji DPPH (2,2-difenil-1-1 pikrilhidrazil) dengan lima konsentrasi dari setiap sampel (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm). *Nephthea* sp. hasil transplantasi memiliki metabolit sekunder golongan alkaloid, tanin, dan steroid. Hasil uji GC-MS menunjukkan terdapat enam jenis senyawa aktif golongan *benzene* dan *fatty acid*. Aktivitas antioksidan diperoleh 34,3–73,1% (in situ) dan 33,2–72,3% (ex situ) serta berbeda nyata ($P < 0,05$) pada setiap konsentrasi dari dua sampel. Peningkatan aktivitas antioksidan *Nephthea* sp. tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$) pada perbedaan lokasi transplantasi (in situ dan ex situ). *Nephthea* sp. hasil transplantasi mengandung enam jenis senyawa metabolit sekunder dan memiliki aktivitas antioksidan.

Kata Kunci: Aktivitas antioksidan; Metabolit sekunder; *Nephthea* sp.; Transplantasi karang

Abstract

Soft corals (Nephthea sp.) produce secondary metabolites in their habitat and can be used as marine natural products (MNP). However, Nephthea sp. transplantation not done identified for secondary metabolites. The aim research to identify secondary metabolites and antioxidant activity assay in Nephthea sp. transplant. Samples of Nephthea sp. used from the transplant area of Ujung Kulon National Park (in situ) and from the aquarium as ex situ transplant samples. Both samples extracted by maceration with 70% ethanol (1:3, w/v). Identification of secondary metabolites was carried out qualitatively and using the GC-MS method for quantitative. Antioxidant activity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-1 picrylhydrazyl) assay. with concentrations of each sample (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, and 200 ppm). Nephthea sp. proven to have secondary metabolites from the alkaloids, tannins and steroids. The result of GC-MS showed that six types of active compounds from the benzene and fatty acid groups. Antioxidant activity obtained was 34.3–73.1% (in situ) dan 33.2–72.3% (ex situ) and was significantly different ($P < 0.05$) at each concentration of the two samples. Antioxidant activity at different transplant locations (in situ and ex situ) in Nephthea sp. did not a significant ($P > 0.05$). Thus, Nephthea sp. transplant were proven to contain six types of secondary metabolite compounds and has antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant activity; *Nephthea* sp.; Secondary metabolites; Transplantation of coral

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i1.35781>

PENDAHULUAN

Ekosistem terumbu karang merupakan ekosistem hayati dengan keanekaragaman yang tinggi (Wagey, 2017), sehingga memiliki berbagai peran yang penting untuk lingkungan dan juga manusia (Salanggon & Finarti, 2016). Salah satu peran ekosistem terumbu karang adalah *marine natural product* (MNP) yang berasal dari metabolit sekunder organisme laut. Organisme laut penyusun ekosistem terumbu karang yang memiliki metabolit sekunder di antaranya adalah karang lunak (Patra & Majumdar, 2004; Tanod et al., 2015; Kawung et al., 2017; Kowal et al., 2018), alga (Tanod et al., 2015), spons (Luissandy et al., 2017; Sumilat, 2017), dan *Ascidian* (Sumilat et al., 2017; Sumilat et al., 2018). Karang lunak *Nephthea* sp. merupakan organisme laut penyusun ekosistem terumbu karang. Organisme laut penyusun ekosistem terumbu karang merupakan penghasil senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang potensial (Tanod et al., 2015).

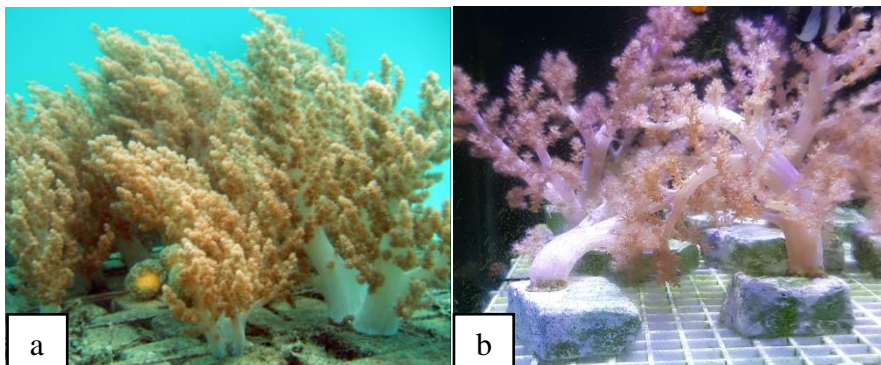
Organisme laut yang menghasilkan metabolit sekunder dan sebagai MNP (Ulrich-Merzenich et al., 2010) sangat rentan dari kepunahan sehingga merusak ekosistem. Organisme tersebut akan dieksploitasi secara berlebihan di habitatnya. Oleh sebab itu, perlu manajemen konservasi yang tepat untuk menjaga ekosistem terumbu karang. Kegiatan transplantasi karang lunak secara *in situ* ataupun *ex situ* merupakan salah satu kegiatan manajemen konservasi yang dapat menanggulangi kerusakan ekosistem terumbu karang. Diharapkan hasil transplantasi karang lunak memiliki peran dan kandungan metabolit yang tidak berbeda dengan karang lunak dari habitat aslinya.

Karang lunak yang berasal dari habitat aslinya memiliki kandungan metabolit sekunder dari golongan benzena (Tanod et al., 2019) dan terbukti memiliki potensi antibakteri (Kowal et al., 2018) serta berpotensi sebagai bahan baku obat (Apri et al., 2013). Namun, identifikasi metabolit sekunder dari karang lunak *Nephthea* sp. yang telah ditransplantasikan secara *in situ* maupun *ex situ* belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan identifikasi metabolit sekunder secara kualitatif dan kuantitatif pada karang lunak (*Nephthea* sp.) yang telah ditransplantasi secara *in situ* maupun *ex situ* serta dilakukan uji DPPH (2,2-difenil-1-1 pikrilhidrazil) untuk mengetahui aktivitas antioksidannya.

MATERIAL DAN METODE

Preparasi Sampel Karang Lunak Hasil Transplantasi

Sampel karang lunak yang digunakan adalah *Nephthea* sp. hasil transplantasi secara *in situ* dan *ex situ* (Gambar 1). Karang transplantasi *in situ* berasal dari area transplantasi Taman Nasional Ujung Kulon (TNUK) dengan letak koordinat S 06°46'43.0° E 105°30'22.2'' pada kedalaman 3–5 m, sampel diambil dengan teknik *free diving*. Sampel dari *ex situ* berasal dari transplantasi karang yang telah dilakukan pada akuarium di Kodja Raya Depok. Karang lunak dibersihkan dengan dialiri akuades lalu ditiriskan hingga masa airnya berkurang, kemudian dicacah kecil dan ditimbang. Selanjutnya sampel karang dimasukkan ke dalam etanol hingga terendam sempurna. Sampel dibawa ke laboratorium dalam *cooling box* dengan kondisi dingin.



Gambar 1. Transplantasi karang lunak *Nephthea* sp., yaitu secara *in situ* (a) dan *ex situ* (b)

Ekstraksi dan Rotavaporasi

Ekstraksi sampel karang dengan metode maserasi menggunakan pelarut ethanol 70%, dengan perbandingan 1:3 (w/v). Sebelum maserasi, dilakukan penghalusan sampel karang (300 g) terlebih

dahulu menggunakan mortar yang telah disterilkan. Maserasi dilakukan selama dua malam dengan pengadukan setiap 6 jam. Setelah itu, sampel hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring dan sampel sisa dilakukan remaserasi dengan perbandingan 1:2 (w/v) untuk mengetahui rendemen total. Filtrat yang didapat kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C untuk mendapatkan ekstrak kental.

Identifikasi Metabolit Sekunder

Identifikasi metabolit sekunder dilakukan dengan cara uji kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif bertujuan mengetahui golongan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan steroid (Tanod et al., 2019). Uji kuantitatif menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk mengetahui komponen kandungan senyawa metabolik secara spesifik.

Penapisan Fitokimia (Kualitatif)

Uji Alkaloid

Ekstrak karang lunak (etanol 70%) sebanyak 5 mL dihomogenkan dengan 1 mL asam klorida 2 N serta 10 mL air. Selanjutnya dipanaskan (55 °C) selama 2 menit menggunakan penangas air. Kemudian sampel didinginkan dan disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga yang disimpan dalam tabung reaksi. Masing-masing sampel dalam tabung reaksi diberikan pereaksi yang berbeda yaitu pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, dan pada tabung ketiga dimasukkan pereaksi Wagner. Reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih atau kekuningan pada pereaksi Mayer, munculnya warna merah-kehitaman pada pereaksi Wagner, dan adanya endapan orange pada pereaksi Dragendorff (Alasa et al., 2017).

Uji Flavonoid

Ekstrak karang lunak sebanyak 5 mL dipanaskan pada penangas air dengan suhu 55 °C selama 5 menit, setelah itu sampel disaring. Pada filtrat yang diperoleh, ditambahkan serbuk magnesium serta HCl:etanol (1:1) dan amil alkohol. Adanya senyawa golongan flavonoid ditandai dengan terbentuknya endapan warna jingga hingga merah ungu.

Uji Saponin

Ekstrak karang lunak sebanyak 5 mL dalam tabung reaksi dikocok dengan kuat. Jika terbentuk busa yang stabil selama 5 menit, maka sampel tersebut diduga terdapat kandungan saponin.

Uji Tanin

Ekstrak karang lunak sebanyak 5 mL ditetesi FeCl₃ 1%. Adanya tanin ditandai dengan munculnya warna biru kehitaman atau hijau kecokelatan.

Uji Steroid

Ekstrak karang lunak sebanyak 5 mL diuapkan dalam cawan penguap. Residu dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat, dan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin cokelat atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan bila muncul cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid.

Analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS)

Identifikasi metabolit sekunder atau senyawa aktif dianalisis menggunakan GC-MS. Masing-masing ekstrak etanol 70% karang lunak (transplantasi in situ dan ex situ) diinjeksikan sebanyak 5 µL ke dalam kolom GC-MS (Model 7890, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) yang dilengkapi dengan *autosampler* (Model 7693, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Instrumen dihubungkan ke Detektor Selektif Massa dan Sistem Database Kimia (MSD inert Model 5975C dengan Detektor Tiga Sumbu, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Instrumen juga dilengkapi dengan kolom kapiler HP ultra 2 (0,11 µm). Suhu pada instrument GC-MC diatur, yaitu injektor (250 °C), sumber ion (230 °C), *interface* (280 °C), dan *quadrupole* (140 °C). Daya laju alir

helium yang digunakan adalah 1,2 mL/menit. Deteksi spektrum massa yang digunakan adalah 20–500 m/z (Rawal & Sonawani, 2016; Alfarabi et al., 2022). Hasil metabolit sekunder diidentifikasi berdasarkan database NITS11.L.

Uji Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 2 mL ekstrak karang lunak *Nephthea* sp. dari setiap konsentrasi (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, setiap konsentrasi sampel ditambahkan 0,1 mM DPPH (2,2-difenil-1-1 pikrilhidrazil). Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Selanjutnya dihitung serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516,5 nm. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pada setiap konsentrasi sampel. Persentase inhibisi dihitung dengan rumus % inhibisi = $\frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$.

Analisi Data

Data hasil identifikasi metabolit sekunder dianalisis secara deskriptif. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dipilih dengan kualitas lebih dari 85% (Tanod et al., 2019). Data aktivitas antioksidan dianalisis berdasarkan *one way* ANOVA dan uji lanjut Duncan (95%) menggunakan program SPSS 16.

HASIL

Metabolit Sekunder *Nephthea* sp.

Hasil uji fitokimia secara kualitatif menggunakan pereaksi yang berbeda, *Nephthea* sp. hasil transplantasi in situ dan ex situ mengandung senyawa aktif dari golongan alkaloid, tanin, dan steroid (Tabel 1). Senyawa aktif dari golongan flavonoid dan saponin yang diujikan tidak terdeteksi menggunakan metode uji kualitatif.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia secara kualitatif dari *Nephthea* sp. hasil transplantasi in situ dan ex situ

Senyawa uji	Pereaksi	Hasil pengamatan	Hasil uji sampel	
			In situ	Ex situ
Alkaloid	Mayer	Terbentuk endapan warna putih	Positif (+)	Positif (+)
Flavonoid	HCl dan Mg	Tidak ada perubahan warna	Negatif (-)	Negatif (-)
Saponin	Akuades (55 °C)	Tidak terbentuk buih/busa	Negatif (-)	Negatif (-)
Tanin	FeCl ₃ 1%	Larutan berwarna hitam	Positif (+)	Positif (+)
Steroid	(CH ₃ CO) ₂ O dan FeCl ₃	Larutan berwarna merah	Positif (+)	Positif (+)

Keterangan: + (mengandung senyawa uji); - (senyawa uji tidak terdeteksi)

Tabel 2. Senyawa metabolit sekunder pada *Nephthea* sp. hasil transplantasi in situ dan ex situ berdasarkan identifikasi GC-MS

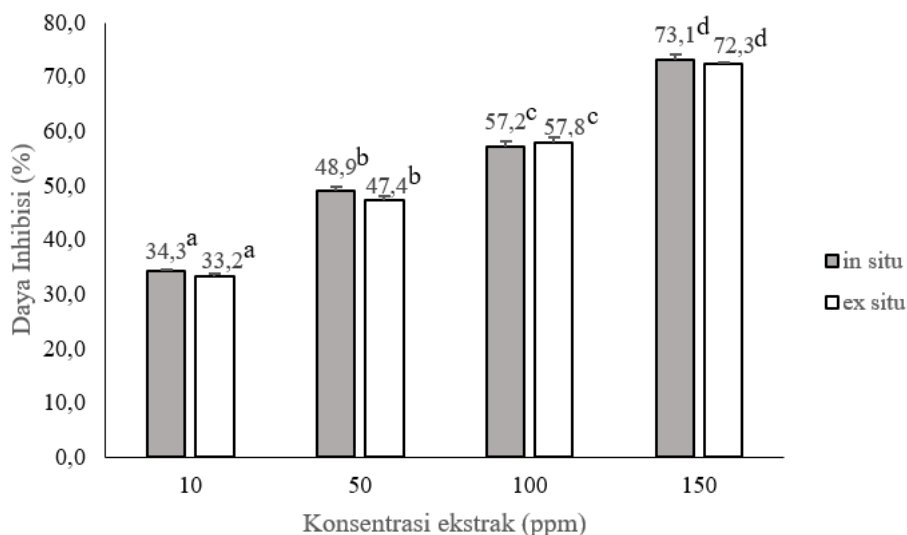
Senyawa metabolit sekunder	Rumus molekul	Kualitas (>85%)		Golongan	Potensi
		in situ	ex situ		
<i>Hexadecanoic acid, methyl ester</i>	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	95	98	Asam lemak	<i>Cytotoxic anti-inflammatory</i>
<i>14-methylpentadecanoic acid</i>	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	86	95	Asam lemak	<i>Anti-inflammatory</i>
<i>Cyclohexene, 6-ethenyl-6-methyl-1-(1-methylethyl)-3-(1-methylethylidene)-, (S)-Styrene</i>	C ₁₅ H ₂₄	86	85	<i>Benzene</i>	<i>Anti-inflammatory</i>
<i>Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene</i>	C ₆ H ₅ CHCH ₂	-	95	<i>Benzene</i>	<i>Anti-inflammatory</i>
<i>16-Methyl-10-oxo-heptadecanoic acid</i>	C ₈ H ₈	-	91	<i>Benzene</i>	<i>Anti-inflammatory</i>
	C ₁₈ H ₃₄ O ₃	87	-	Asam lemak	<i>Cytotoxic</i>

Identifikasi senyawa metabolit sekunder secara kuantitatif menggunakan GC-MS dan hanya senyawa dengan kualitas 85% yang ditampilkan sebagai data yang dapat tervalidasi (Tanod et al., 2019). Total enam senyawa yang terdeteksi dari kedua sampel karang lunak yang dianalisis GC-MS dengan kualitas melebihi 85% (Tabel 2). Sampel *Nephthea* sp. yang ditransplantasi secara in situ menghasilkan 23 *peak*, namun hanya delapan senyawa yang teridentifikasi dan empat senyawa yang kualitasnya melebihi 85%. Pada sampel *Nephthea* sp. ex situ menghasilkan 33 *peak* dengan senyawa yang terdeteksi mencapai 13 dan hanya lima senyawa dengan kualitas melebihi 85%.

Enam senyawa metabolit sekunder teridentifikasi dengan kualitas melebihi 85% yang termasuk pada golongan *benzene* dan *fatty acid*. Pada sampel in situ teridentifikasi empat senyawa metabolit sekunder dan lima senyawa dari sampel ex situ, serta terdapat tiga senyawa yang berurutan di kedua sampel (Tabel 2). Ketiga senyawa tersebut adalah *hexadecanoic acid*, *pentadecanoic acid*, dan *Cyclohexene*. Sedangkan senyawa *heptadecanoic acid* hanya ada pada sampel in situ serta senyawa *styrene* dan *bicyclo* hanya teridentifikasi pada sampel ex situ.

Aktivitas Antioksidan *Nephthea* sp.

Aktivitas antioksidan ekstrak *Nephthea* sp. dievaluasi menggunakan metode penangkal radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH merupakan molekul radikal bebas yang relatif stabil pada suhu ruang. Molekul DPPH akan mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning jika terdapat senyawa atau molekul antioksidan. Aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel ekstrak *Nephthea* sp. hasil transplantasi in situ dan ex situ mengalami peningkatan seiring meningkatnya konsentrasi dari masing-masing sampel. Setiap sampel dengan konsentrasi yang berbeda memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda nyata ($P < 0,05$). Rerata aktivitas antioksidan pada sampel in situ adalah 34,3–73,1% dan 33,2–72,3% untuk rerata sampel ex situ, serta terdapat peningkatan yang nyata ($P < 0,05$) seiring meningkatnya konsentrasi pada masing-masing sampel. Hasil analisis antar sampel pada masing-masing konsentrasi (10–150 ppm) tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$), dengan demikian aktivitas antioksidan antara *Nephthea* sp. yang ditransplantasikan secara in situ dan ex situ memiliki aktivitas antioksidan yang hampir sama (Gambar 2).



Gambar 2. Aktivitas antioksidan karang lunak *Nephthea* sp. hasil transplantasi secara in situ dan ex situ. Nilai rata-rata yang disertai huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$) hasil uji lanjut Duncan

PEMBAHASAN

Metabolit Sekunder *Nephthea* sp.

Senyawa aktif alkaloid, tanin, dan steroid yang terdeteksi pada *Nephthea* sp. merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Ketiga senyawa tersebut terdeteksi pada beberapa karang lunak serta memiliki aktivitas antioksidan (Apri et al., 2013) seperti *Lobophytum* sp. (Putra et al., 2016) dan *Nephthea* sp. (Patra & Majumdar, 2004; Tanod et al., 2019). Antioksidan sangat penting

dalam menjaga homeostasis tubuh terutama dalam mereduksi radikal bebas yang berlebihan (Yuningtyas et al., 2021). Ketika sel maupun tubuh dalam keadaan tidak seimbang antara radikal bebas dan antioksidan, maka sel atau tubuh akan mengalami stres oksidatif (Fahrudin et al., 2020). Keadaan stres oksidatif yang terus berlanjut dapat membahayakan tubuh. Salah satu cara menanggulangi stres oksidatif adalah dengan antioksidan endogen (Fahrudin et al., 2015; Sumilat et al., 2018). Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang berasal dari luar tubuh dan dapat diperoleh dari tumbuhan maupun hewan yang memiliki senyawa aktif dari metabolit sekundernya (Patra & Majumdar, 2004; Tanod et al., 2015; Putra et al., 2016; Tanod et al., 2019).

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari ekstrak *Nephthea* sp., selain dapat dijadikan sebagai bahan baku obat herbal (Apri et al., 2013), senyawa-senyawa tersebut juga berpotensi sebagai insektisida nabati. Senyawa alkaloid, tanin, dan steroid jika dikonsumsi oleh serangga, maka senyawa-senyawa tersebut dapat menjadi racun perut bagi serangga dan menyebabkan kematian pada larvanya (Javandira et al., 2016). Beberapa karang lunak telah terbukti menghasilkan senyawa aktif seperti antibakteri (Kowal et al., 2018), antikanker, antiinflamasi (Fattorusso et al., 2009) dan memiliki potensi dalam pengobatan kolestasis (Putra et al., 2016).

Enam senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi melalui instrument GC-MS, lima senyawa memiliki potensi sebagai anti-inflamatori dan dua senyawa berpotensi sebagai sitotokik (Tabel 2). Kelima senyawa yang bersifat sebagai anti-inflamatori dengan mekanisme kerjanya sebagai antioksidan (Tanod et al., 2019) yaitu *hexadecanoic acid, methyl ester, 14-methylpentadecanoic acid, cyclohexene-6-ethenyl-6-methyl-1-(1-methylethyl)-3-(1-methylethylidene)-, (S)-, styrene*, dan *bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene*. Senyawa-senyawa tersebut akan menyediakan atau memberikan elektron terhadap radikal bebas penyebab peradangan, sehingga radikal bebas akan menjadi stabil karena elektron terluarnya menjadi genap atau berpasangan (Thao et al., 2014; Arulselvan et al., 2016; Hsiao et al., 2015).

Selanjutnya dua senyawa *hexadecanoic acid* dan *16-Methyl-10-oxo-heptadecanoic acid* yang merupakan dari golongan asam lemak, memiliki potensi sebagai sitotoksik (Iswani et al., 2014; Tanod et al., 2019). Menurut Hsiao et al. (2015), senyawa sitotoksik memiliki mekanisme kerja mereduksi terbentuknya ekspresi protein *inducible nitric oxide synthase* (iNOS). iNOS merupakan salah satu protein pro-inflamasi yang dapat mempengaruhi respon inflamasi akut menjadi kronis (Lin et al., 2014), serta iNOS sangat erat kaitannya dengan perkembangan berbagai penyakit pada manusia. Jika iNOS tidak dapat direduksi atau dihambat ekspresinya, maka akan berkembang penyakit kronis dalam tubuh manusia seperti Alzheimer (Newcombe et al., 2018), aterosklerosis, *arthritis* (McCartney-Francis et al., 2001), diabetes (Kaplanski et al., 2003), radang usus (Hu et al., 2011), dan kanker (Marris, 2006).

Aktivitas Antioksidan *Nephthea* sp.

Ekstrak *Nephthea* sp. (EtOH 70%) memiliki aktivitas antioksidan yang terbukti mampu menghambat radikal bebas DPPH. Adanya penghambatan terhadap molekul DPPH, maka ekstrak *Nephthea* sp. diyakini memiliki aktivitas antioksidan yang berasal dari beberapa senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Terdapat dua mekanisme reaksi antioksidan dalam mereduksi radikal bebas DPPH (Alfarabi et al., 2022). Mekanisme pertama adalah mendonorkan elektron atau atom H dari molekul antioksidan ke molekul DPPH, sehingga molekul DPPH menjadi netral. Kedua, molekul antioksidan dan molekul DPPH berbagi elektron.

Aktivitas antioksidan pada sampel dengan konsentrasi 10 ppm dan 50 ppm, rerata aktivitas antioksidan masih rendah (kurang dari 50%). Rendahnya aktivitas antioksidan pada dua konsentrasi tersebut dibandingkan konsentrasi 100 ppm dan 150 ppm dapat disebabkan ekstrak *Nephthea* sp. masih dalam bentuk ekstrak kasar yang sangat memungkinkan mengandung banyak metabolit. Sedangkan tidak semua metabolit tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Bahkan ada kemungkinan metabolit lain dapat menghambat reaksi antioksidan antara ekstrak dan molekul DPPH. Hal tersebut dimungkinkan adanya pengaruh sifat fisik-kimia metabolit yang ada dalam suatu ekstrak (Long et al., 2015; Gan et al., 2017; Dillak et al., 2019). Namun demikian, ekstrak *Nephthea* sp. pada konsentrasi

100 ppm dan 150 ppm rerata aktivitas antioksidan semakin meningkat seiring meningkatnya jumlah konsentrasi ekstrak.

SIMPULAN DAN SARAN

Nephthea sp. hasil transplantasi mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, tanin, dan steroid (berdasarkan uji kualitatif), dan *hexadecanoic acid-methyl ester*, *14-methylpentadecanoic acid*, *cyclohexene-6-ethenyl-6-methyl-1*, *Styrene*, *bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene*, dan *16-methyl-10-oxo-heptadecanoic acid* (berdasarkan uji kuantitatif). *Nephthea* sp. hasil transplantasi memiliki aktivitas antioksidan dan tidak dipengaruhi oleh lokasi transplantasi (in situ dan ex situ).

Nephthea sp. hasil transplantasi terbukti memiliki senyawa metabolit sekunder, namun jumlahnya masih sedikit. Penggunaan jenis pelarut dengan konsentrasi lebih dari 70% sangat disarankan, sehingga diharapkan lebih banyak metabolit sekunder yang dapat teridentifikasi dengan baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Pusat Penelitian dan Penerbitan (Puslitpen)-LPPM, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta atas kepercayaan dalam memberikan pendanaan penelitian dengan nomor SK: B-301/LP2M/-PUSLITPEN/TL.02/2023.

REFERENSI

- Alasa, A. N., Anam, S., & Jamaluddin, J. (2017). Analisis kadar total metabolit sekunder ekstrak etanol daun tamoenu (*Hibiscus surattensis* L.), *Jurnal Kovalen*, 258-268. doi:10.22487/j24775398.2017.v3.i3.9334.
- Alfarabi, M., Turhadi., Suryowati, T., Imaneli, N.A., & Sihombing, P. O. (2022). Short communication: Antioxidant activity and metabolite profiles of leaves and stem extracts of *Vitex negundo*, *Biodiversitas*, 23(5), 2663-2667. doi: 10.13057/biodiv/d230550.
- Apri, R., Zamani, N. P., & Effendi, H. (2013). Exploration of soft coral as antioxidant at Pongok Island, South Bangka. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan*, 4(2), 211-217.
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M.E., & Kumar, S. S. (2016). Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1-15. doi: 10.1155/2016/5276130.
- Dillak, H. I., Kristiani, E. B. E., & Kasmiyati, S. (2019). Secondary metabolites and antioxidant activity of ethanolic extract of falok (*Sterculia quadrifida*), *Biosaintifika*, 11, 296-303. doi: 10.15294/biosaintifika.v11i3.20736.
- Fahrudin, F., Solihin, D. D., Kusumorini, N., & Ningsih, S. (2015). Efektifitas ekstrak gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) sebagai hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi CCl₄, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2), 115-122.
- Fahrudin, F., Ningsih, S., Wardhana, H. I., Hariwibowo, D. R., & Hamida, F. (2020). Efektifitas karbon tetraklorida (ccl₄) terhadap tikus (*Rattus norvegicus* L.) sebagai hewan model fibrosis hati. *Berita Biologi*, 19(3B), 411-422. doi: 10.14023/beritabiologi.v19i3B.3961.
- Fattorusso, E. A. R., Taglialatela-Scafati, O., Irace, C., Maffettone, C., Bavestrello, G., & Cerrano, C. (2009). Oxygenated cembranoids of the decaryiol type from the Indonesian soft coral *Lobophytum* sp. *Tetrahedron*, 65(15), 2898-2904. doi: 10.1016/j.tet.2009.02.008.
- Gan, J., Feng, Y., He, Z., Li, X., & Zhang, H. (2017). Correlations between antioxidant activity and alkaloids and phenols of maca (*Lepidium meyenii*), *Journal of Food Quality*, 2017, 1-17. doi: 10.1155/2017/3185945.
- Hsiao, T. H., Sung, C. S., Lan, Y. H., Wang, Y. C., Lu, M. C., Wen, Z. H., ... Sung, P. J. (2015). New anti-inflammatory cembranes from the cultured soft coral *Nephthea columnaris*, *Marine Drugs*, 13(6), 3443-3453. doi: 10.3390/md13063443.
- Iswani, S., Tohir, D., & Januar, H.I. (2014). Identifikasi senyawa sitotoksik karang lunak *Sarcophyton* sp. dari Perairan Pulau Panggang Taman Nasional Kepulauan Seribu, *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 12(2), 238-243.
- Javandira, C., Widnyana, I. K., & Suryadarmawan, I. G. A. (2016). Kajian fitokimia dan potensi

ekstrak daun tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) sebagai pestisida nabati. *Prosiding Seminar Nasional Inovasi IPTEKS Perguruan Tinggi untuk Meningkatkan Kesejahteraan Masyarakat*, 11, 402-406.

- Hu, G. P., Yuan, J., Sun, L., She, Z. G., Wu, J. H., Lan, X. J., ... Chen, S.P. (2011). Statistical research on marine natural products based on data obtained between 1985 and 2008. *Marine Drugs*, 9(4), 514-525. doi: 10.3390/md9040514.
- Kaplanski, G., Marin, V., Montero-Julian, F., Mantovani, A., & Farnarier, C. (2003). IL-6: A regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends in Immunology*, 24(1), 25-29. doi: 10.1016/s1471-4906(02)00013-3.
- Kawung, N. J., Mangindaan, R. E. P., Rompas, R. M., Chasanah, M., Kapoyos, M., Abdjul, B., ... Sumagando, A. (2017). Cytotoxic anticancer from new compound unsrat-sinularine of softcoral *Sinularia* sp. from Bunaken Island, Manado, Indonesia, *International Journal of Drug Development and Research*, 9(3), 01-04.
- Kowal, A. L., Angkouw, E. D., Kawung, N. J., Kemer, K., Manoppo, H., & Sumilat, D. A. (2018). Potensi antibakteri karang lunak *Lobophytum* sp. dari Perairan Pangalisang Pulau Bunaken terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Ilmiah Platax*, 6(2), 89-97. doi: 10.35800/jip.6.2.2018.20638.
- Lin, W. Y., Chen, B. W., Huang, C. Y., Wen, Z. H., Sung, P. J., Su, J. H., ... Sheu, J. H. (2014). Bioactive cembranoids, sarcocrassocolides p-r, from the Dongsha Atoll soft coral *Sarcophyton crassocaule*, *Marine Drugs*, 12(2), 840-850. doi: 10.3390/md12020840.
- Long, F., Yang, H., Xu, Y., Hao, H., & Li, P. (2015). A strategy for the identification of combinatorial bioactive compounds contributing to the holistic effect of herbal medicines, *Nature*, 5, 1-11. doi: 10.1038/srep12361.
- Luissandy., Lintang, R. A. J., & Sumilat, D. A. 2017. Bioaktivitas antibakteri fraksi ods spons *Agelas* sp. dari Perairan Pangalisang Pulau Bunaken, *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 2(1), 22-30. doi: 10.35800/jplt.5.3.2017.16936.
- Marris, E. (2006). Marine natural products: Drugs from the deep. *Nature*, 443, 904-905. doi: 10.1038/443904a.
- McCartney-Francis, N. L., Song, X., Mizel, D. E., Wahl, S. M., & Sharon, M.W. (2001). Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase exacerbates erosive joint disease. *The Journal of Immunology*, 166(4), 2734-2740. doi: 10.4049/jimmunol.166.4.2734.
- Newcombe, E. A., Camats-Perna, J., Silva, M. L., Valmas, N., Huat, T. J., & Medeiros, R. (2018). Inflammation: The link between comorbidities, genetics, and Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1), 276. doi: 10.1186/s12974-018-1313-3.
- Patra, A., & Majumdar, A. (2004). Secondary metabolites of a soft coral (*Nephthea* sp.) of the Bay of Bengal. *Archive Organic Chemistry*, 2003(9), 133-139. doi: 10.3998/ark.5550190.0004.916.
- Putra, M. Y., Murniasih, T., Swasono, R. T., Wibowo, J. T., Saputri, A. N. C., Widhiana, M. R., & Arlyza, I.S. (2016). Secondary metabolites and their biological activities in Indonesian soft coral of the genus *Lobophytum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11), 909-913. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.08.011.
- Rawal, J. R., & Sonawani, P. R. (2016). Determination of bioactive components of *Cynodon dactylon* by gc-ms analysis & it's *in vitro* antimicrobial activity. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 7(1), 4880-4885.
- Salanggon, A. M., & Finarti. (2016). Struktur populasi rekrut karang hermatifik pada metode fish home di Teluk Palu. *Journal of Fisheries, Marine and Aquatic Science*, 1(1), 33-38. doi: 10.47384/kauderni.v1i1.10.
- Sumilat, D. A., Wewengkang, D. S., Paruntu, C. P., & Rotinsulu, H. (2017). Inhibitory activities of ascidian *Herdmania momus* on the colony formation of chinese hamster v79 cells, collected in Manado North Sulawesi, Indonesia. *Journal of Asean Studies and Maritime Issues*, 3(5), 13-19.
- Sumilat, D. A., Wewengkang, D. S., Rotinsulu, H., Yamazaki, H., Oda, T., Ukai, K., & Namikoshi, M. (2018). Bioactivity of extracts from ascidians collected in north sulawesi as seeds of marine-

derived drugs. *AACL Bioflux*, 11(2), 516–524.

- Thao, N. P., Luyen, B. T. T., Ngan, N. T. T., Song, S. B., Cuong, N. X., Nam, N. H., ... Minh, C. V. (2014). New anti-inflammatory cembranoid diterpenoids from the Vietnamese soft coral *Lobophytum crassum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(1), 228-232. doi: 10.1016/j.bmcl.2013.11.033.
- Tanod, W. A., Mangindaan, R. E. P., & Kapojos, M. (2015). Aktivitas antimitotik dari ekstrak karang lunak genus *Sinularia*. *Omni Akuatika*, 11(2), 41-49. doi: 10.20884/1.oa.2015.11.2.38.
- Tanod, W. A., Yanuhar, U., Maftuch., Putra, M. A., & Risjani, Y. (2019). Screening of no inhibitor release activity from soft coral extracts origin Palu Bay, Central Sulawesi, Indonesia. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 18(2), 126-141. doi:10.2174/1871523018666190222115034.
- Ulrich-Merzenich, G., Panek, D., Zeitler, H., Vetter, H., & Wagner, H. (2010). Drug development from natural products: Exploiting synergistic effects. *Indian Journal. Experimental Biology*, 48(3), 208-219.
- Wagey, B. T. (2017). Morphometric analysis of congeneric seagrasses (*Cymodocea rotundata* and *Cymodocea serrulata*) in the coastal areas of Bunaken National Park, North Sulawesi, Indonesia, *AACL Bioflux*, 10(6), 1638-1646.
- Yuningtyas, S., Maesenah, E., & Telaumbanua, M. (2021). Aktivitas antioksidan, total fenol, dan kadar vitamin c dari kombucha daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Farmamedika*, 6(1), 10-14. doi: 10.47219/ath.v6i1.116.

Kepekaan *Enterobacteriaceae* Asal Cobek Batu Gado-Gado Terhadap *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, dan *Tetracycline*

Fathin Hamida^{1*}, Ratna Ambarsari¹, Yayah Siti Djuhariah¹, Fahri Fahrudin², Munawarohthus Sholikha¹

¹Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh. Kahfi II. Srengseng Sawah, Jakarta Selatan, 12640 Indonesia

²Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir H. Juanda No.95, Ciputat, Kec. Ciputat Tim., Kota Tangerang Selatan, Banten 15412 Indonesia

*E-mail korespondensi: fathinfarmasi@istn.ac.id

ABSTRAK

Gado-gado merupakan makanan yang disajikan dari sayur-sayuran. Cobek batu menjadi salah satu alat yg digunakan untuk mengolah bumbu gado-gado. Penyimpanan cobek batu yang tidak tepat dan penggunaan cobek batu berkali-kali tanpa pencucian sering dilakukan oleh penjual gado-gado. Hal ini memberikan peluang terjadinya kontaminasi bakteri pada cobek batu. *Enterobacteriaceae* sebagian besar merupakan bakteri patogen pada manusia, hewan, dan tumbuhan. *Enterobacteriaceae* sering ditemukan sebagai agen kontaminan pada makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri *Enterobacteriaceae* dari cobek batu penjual gado-gado dan menguji kepekaan isolat tersebut terhadap antibiotik. Karakterisasi aktivitas biokimia dilakukan meliputi uji katalase, indol, MR-VP, sitrat, dan TSIA. Uji kepekaan *Enterobacteriaceae* terhadap antibiotik menggunakan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*). Enam isolat bakteri *Enterobacteriaceae* berhasil diisolasi dari cobek batu. Hasil karakterisasi aktivitas biokimia menunjukkan bahwa enam isolat tersebut merupakan *Klebsiella pneumoniae* (CB1B), *Serratia fonticola*, (CB3B) *Salmonella enterica*, (CB4A), *Proteus mirabilis* (CB1A), dan *Enterobacter* sp. (CB2A dan CB2B). Berdasarkan uji kepekaan antibiotik diperoleh bahwa tiga isolat yaitu isolat CB1B, CB3B, dan CB4A bersifat resisten terhadap *amoxicillin*, dua isolat yaitu CB1A dan CB2A bersifat intermediet terhadap *amoxicillin*, dan satu isolat yaitu CB2B bersifat sensitif terhadap *amoxicillin*. Seluruh isolat *Enterobacteriaceae* bersifat sensitif terhadap *chloramphenicol* dan *tetracycline*.

Kata Kunci: antibiotik, *Enterobacteriaceae*, gado-gado, resistensi

Susceptibility of Enterobacteriaceae from Cobek Batu Gado-Gado Against Amoxicillin, Chloramphenicol, and Tetracycline

ABSTRACT

Gado-gado is a food served with vegetables. A stone mortar is one of the tools used to process gado-gado spices. Improper storage of stone mortars and repeated use of stone mortars without washing were often done by gado-gado sellers. This provides an opportunity for bacterial contamination in the stone mortar. *Enterobacteriaceae* are mostly pathogenic bacteria in humans, animals, and plants. *Enterobacteriaceae* were often found as contaminating agents in food. This study aimed to isolate *Enterobacteriaceae* bacteria from the stone mortar of gado-gado sellers and test the sensitivity of the isolates against antibiotics. The characterization of biochemical activities carried out includes catalase, indole, MR-VP, citrate, and TSIA tests. The sensitivity test of *Enterobacteriaceae* against antibiotics used the disc diffusion method (*Kirby-Bauer*). Six isolates of *Enterobacteriaceae* bacteria were successfully isolated from the stone mortar. The results of biochemical activity characterization showed that the six isolates were *Klebsiella pneumoniae* (CB1B), *Serratia fonticola*, (CB3B) *Salmonella enterica*, (CB4A), *Proteus mirabilis* (CB1A), and *Enterobacter* sp. (CB2A and CB2B). Based on antibiotic susceptibility tests, it was found that three isolates, namely CB1B, CB3B, and CB4A, were resistant to *amoxicillin*, two isolates, namely CB1A and CB2A, were intermediate to *amoxicillin*, and one isolate, namely CB2B, was sensitive to *amoxicillin*. All *Enterobacteriaceae* isolates were sensitive to *chloramphenicol* and *tetracycline*.

Keywords: antibiotic, *Enterobacteriaceae*, gado-gado, resistance

PENDAHULUAN

Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri basil Gram negatif tidak berspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif (disebabkan tidak memiliki sitokrom-c). Anggota dari famili *Enterobacteriaceae* diantaranya adalah genus *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, dan *Serratia*. Kelompok bakteri ini tersebar luas ditemukan pada tubuh manusia, hewan, serangga, tumbuhan, air, dan tanah. *Enterobacteriaceae* sebagian besar anggotanya adalah bersifat patogen oportunistik penyebab infeksi saluran pencernaan, infeksi paru, infeksi saluran kemih, dan infeksi luka. Sekitar 50% konsumsi antibiotik digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Enterobacteriaceae*. Pengobatan infeksi *Enterobacteriaceae* sering menggunakan antibiotik berspektrum luas seperti *amoxicillin*, *chloramphenicol*, dan *tetracycline* (Moxley, 2022). Tidak sedikit *Enterobacteriaceae* yang dijumpai telah bersifat resisten terhadap beberapa antibiotik (Patilaya et al., 2019; De Angelis et al., 2020; Kurniati et al., 2022). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik dapat menghambat proses penyembuhan dan membahayakan kesehatan (kunder et al., 2014). Jalur kejadian infeksi pada tubuh dapat terjadi salah satunya melalui makanan. Penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa kelompok bakteri *Enterobacteriaceae* seperti *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, dan *Serratia* merupakan bakteri yang sering ditemukan sebagai agen kontaminan pada makanan gado-gado (Anita et al., 2022; Nurhayati et al., 2024).

Gado-gado adalah makanan khas Indonesia yang terbuat dari aneka sayuran segar (mentah) atau direbus setengah matang seperti kol, tauge, kacang panjang, dan mentimun, pare, ditambah bahan pelengkap berupa kentang rebus, telur rebus, lontong kemudian dicampur dengan sambal kacang (Yuniatun et al., 2017). Gado-gado merupakan salah satu makanan siap saji yang berpotensi terkontaminasi oleh mikroba karena kondisinya yang optimum untuk pertumbuhan mikroba. Bumbu gado-gado dibuat secara langsung tanpa pemasakan, hal ini memudahkan bakteri tumbuh dengan cepat sehingga menyebabkan gado-gado mudah rusak dan busuk. Selain itu, kontaminasi silang juga dapat terjadi pada gado-gado, baik berasal dari bahan sayuran yang digunakan, peralatan, air cucian, dan perilaku penjual yang tidak memperhatikan kebersihan (Anita et al., 2022). Bahan gado-gado disimpan di dalam etalase yang tidak terawat pada suhu ruang (tanpa kulkas), bahkan terkadang etalase tidak ditutup. Selain itu, penjual seringkali tidak memiliki fasilitas sanitasi dengan air mengalir. Kondisi ini membuat gado-gado sangat rentan terhadap kontaminasi mikroba (Nurhayati et al., 2024).

Sambal kacang gado-gado dibuat ketika ada pesanan dan ditumbuk pada cobek yang sudah digunakan berkali-kali dalam satu hari tersebut. Cobek batu, ulekan, atau coet adalah alat masak tradisional yang sampai saat ini sering digunakan untuk melumat, menumbuk, menggiling, atau mencampur bumbu masakan. Cobek

batu memiliki pori-pori yang berpotensi menjadi tempat pertumbuhan mikroorganisme. Pencucian cobek batu yang jarang dilakukan serta dibiarkan terbuka tanpa penutup dapat memengaruhi jumlah mikroba yang tumbuh di dalam pori. Bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella* spp. dapat bertahan pada pori-pori alat masak dan mengontaminasi makanan yang dibuat menggunakan alat masak tersebut. Jika makanan tersebut dikonsumsi maka dapat membahayakan kesehatan (Aviat et al., 2016). Penyimpanan cobek batu di tempat terbuka memberikan peluang untuk terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme. Kontaminasi dapat terjadi melalui kontak langsung dengan udara maupun kontak dengan serangga yang hinggap pada permukaan cobek batu seperti lalat dan kecoa. Penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa *Enterobacteriaceae* yang bersifat resisten terhadap antibiotik telah ditemukan pada tubuh lalat dan kecoa (Rihibiha & Friliansari, 2021; Aji, 2020; Kundera et al., 2020). Studi yang melakukan isolasi bakteri *Enterobacteriaceae* dari cobek batu gado-gado dan menguji kepekaannya terhadap antibiotik *amoxicillin*, *chloramphenicol*, dan *tetracycline* belum pernah ada. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan keberadaan *Enterobacteriaceae* yang membawa sifat resisten terhadap antibiotik pada cobek batu gado-gado sehingga dapat menjadi informasi rujukan mengenai penyebaran *Enterobacteriaceae* yang bersifat resisten terhadap antibiotik.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. NaCl 0,9% steril. Medium SSA (*Salmonella-shigella agar*) (Himedia), Medium TSIA (*Triple sugar iron agar*) (Oxoid), Medium SIM (*Sulfide indole motility*) (Oxoid), *Methyl red & voges proskauer broth* (MR-VP Broth) (Merck), Medium SCA (*Simmon's citrate agar*), reagen Kovac's. Zat pereaksi pewarnaan Gram yaitu kristal violet, iodine/lugol, safranin, alkohol 96%, akuades steril, dan minyak imersi. Medium MHA (*Mueller Hinton agar*) (Merck), *amoxicillin disc* 20 µg, *chloramphenicol disc* 30 µg, *tetracycline disc* 30 µg.

Persiapan Sampel. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah cobek batu. Cobek batu yang digunakan pada penelitian ini yaitu cobek batu dalam kondisi yang dianggap bersih oleh penjual gado-gado (setelah dibersihkan oleh penjual sebelum memulai berjualan) yang biasa digunakan oleh penjual gado-gado untuk membuat gado-gado. Cobek batu diperoleh dari 4 penjual gado-gado yang berada di sekitar kelurahan Penjarangan Jakarta Utara, yaitu:

CB 1: pedagang gado-gado yang berjualan di sekitar Jl. Tanah Pasir

CB 2: pedagang gado-gado yang berjualan di sekitar Jl. Tanjung Wangi 2

CB 3: pedagang gado-gado yang berjualan di sekitar Jl. Tanjung Wangi 1

CB 4: pedagang gado-gado yang berjualan di sekitar Jl. Tanah Merah.

Masing – masing cobek batu yang telah dibersihkan oleh Pedagang dibungkus memakai *aluminium foil* steril kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi ISTN.

Isolasi *Enterobacteriaceae* dari Cobek Batu Penjual Gado-Gado. Metode isolasi *Enterobacteriaceae* mengacu pada prosedur Wijaya et al. (2021) yang telah dimodifikasi. Masing-masing cobek batu dibilas secara aseptis menggunakan 10 mL akuades steril dengan cara diusap sekeliling permukaan cobek batu menggunakan *cotton buds* steril. Air bilasan cobek batu dipindahkan ke dalam tabung reaksi steril menggunakan mikropipet lalu dihomogenisasi menggunakan vortex selama 1 menit. Kemudian, sebanyak 1 mL air bilasan cobek batu yang telah dihomogenisasi dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl 0,9% steril lalu dihomogenisasi menggunakan vortex selama 1 menit sebagai pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya dibuat pengenceran berseri hingga diperoleh pengenceran 10^{-3} . Masing-masing tabung seri pengenceran yang berisi air bilasan cobek batu diambil sebanyak 0,1 mL dan dituang ke permukaan medium cawan SSA (*Salmonella Shigella Agar*) lalu disebar menggunakan batang sebar hingga merata. Selanjutnya, seluruh cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni tunggal bakteri yang tumbuh pada medium cawan SSA dimurnikan (purifikasi) pada medium cawan SSA yang baru dengan cara gores kuadran lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Purifikasi diulangi terhadap koloni tunggal yang tumbuh sampai diperoleh koloni tunggal dengan karakteristik yang seragam pada masing-masing cawan. Setiap koloni tunggal yang diperoleh diinokulasi pada medium tabung miring NA (*Nutrient Agar*) dengan cara gores *zig-zag*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, tabung miring NA disimpan di dalam *refrigerator* suhu 10°C sebagai kultur stok.

Pewarnaan Gram. Sebanyak satu ose isolat bakteri dibuat olesan bakteri pada kaca objek secara aseptis. Kemudian olesan bakteri diwarnai menggunakan metode pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1.000x. Bakteri Gram positif ditunjukkan dengan warna ungu violet/biru tua pada dinding sel bakteri, sedangkan bakteri Gram negatif ditunjukkan dengan warna merah pada dinding sel bakteri yang tampak dibawah pengamatan mikroskop cahaya (Cappucino & Sherman, 2014).

Karakterisasi Biokimia (Mailisa et al., 2022)

1. Uji Katalase

Sebanyak satu tetes H_2O_2 3% ditetaskan pada permukaan kaca objek. Selanjutnya diambil sebanyak satu ose isolat bakteri lalu dicampurkan dengan cara diaduk menggunakan jarum ose pada H_2O_2 3% yang sudah ada pada permukaan kaca objek. Perubahan/reaksi yang terjadi diamati secara langsung. Katalase positif ditandai dengan terbentuknya buih putih pada campuran tersebut, sedangkan katalase negatif tidak terjadi perubahan atau tidak terbentuk buih pada campuran isolat dengan H_2O_2 3%.

2. Uji Indol, H_2S , dan Motilitas

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi dengan cara tusuk tegak lurus pada medium tabung tegak semi solid SIM (*Sulfide Indol Moly*). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, masing- masing tabung diberi 5-10 tetes reagen Kovac's. Perubahan/reaksi yang terjadi diamati. Indol positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan medium, sedangkan indol negatif tidak terjadi perubahan atau tidak terbentuk cincin merah pada permukaan medium. Produksi H_2S ditandai dengan terbentuknya endapan hitam pada medium. Medium yang tidak terbentuk endapan hitam menunjukkan tidak ada produksi H_2S . Motilitas ditandai dengan pertumbuhan bakteri di area luar tusukan, pertumbuhan bakteri ditandai dengan warna yang lebih keruh dari medium. Apabila pertumbuhan (keruh) berada di area tusukan hal ini menunjukkan bahwa isolat bersifat non-motil.

3. Uji *Methyl Red* dan *Voges-Proskauer* (MR-VP)

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi pada medium tabung MR-VP *Broth* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, kultur dipisahkan menjadi dua tabung (menggunakan tabung steril) yaitu tabung 1 untuk uji MR dan tabung 2 untuk uji VP. Uji MR dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 3 tetes indikator merah metil ke dalam kultur lalu diamati perubahan warna yang terjadi. MR positif ditandai dengan warna medium yang berubah menjadi merah, sedangkan MR negatif tidak terjadi perubahan warna (warna kultur tetap kuning). Uji VP dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 10 tetes reagen *Barrit's A* lalu dikocok setelah itu segera ditambahkan 10 tetes reagen *Barrit's B* lalu dikocok dengan selang waktu setiap 3-4 menit. Perubahan warna kultur yang terjadi diamati setelah 15 menit penambahan reagen *Barrit's*. Reaksi VP positif ditandai dengan perubahan warna kultur menjadi merah tua.

4. Uji Sitrat

Sebanyak satu ose biakan isolat bakteri diinokulasi pada permukaan medium tabung agar miring SCA (*Simmon's Citrate Agar*) dengan cara gores *zig-zag*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perubahan/reaksi yang terjadi diamati. Perubahan warna medium menjadi biru gelap menunjukkan hasil positif, sedangkan warna medium berwarna hijau menunjukkan hasil negatif.

5. Uji *Triple sugar iron agar* (TSIA)

Sebanyak satu ose biakan isolat bakteri diinokulasi ke medium TSIA dengan cara gores pada bagian agar miring (*slant*) lalu ditusuk tegak lurus pada bagian dasar tabung (*butt*). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perubahan/reaksi yang terjadi diamati. Fermentasi karbohidrat ditunjukkan dengan perubahan warna medium menjadi kuning pada bagian medium.

Pengujian Kepekaan *Enterobacteriaceae* terhadap Antibiotik. Uji kepekaan terhadap antibiotik menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*.

Sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri (10^8 CFU/mL) ditanam pada medium cawan MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan cara sebar. Selanjutnya, diletakkan kertas cakram antibiotik uji pada permukaan medium. Kemudian medium diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram antibiotik diukur menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak dua kali pada masing-masing isolat bakteri. Diameter zona hambat yang telah diukur kemudian diinterpretasikan kriteria kepekaannya berdasarkan panduan CLSI (2021) (**Tabel 1**).

Tabel 1. Kategori interpretasi dan Diameter Zona Hambat *Enterobacteriaceae*

Antibiotik	Kriteria Interpretasi Diameter Zona Hambat (mm)		
	S	I	R
Amoxicillin (20 μg)	≥ 18	14 – 17	≤ 13
Tetracycline (30 μg)	≥ 15	12 – 14	≤ 11
Chloramphenicol (30 μg)	≥ 18	13 – 17	≤ 12

Keterangan: S: sensitif; I: intermedier, R: resisten (sumber: CLSI, 2021)

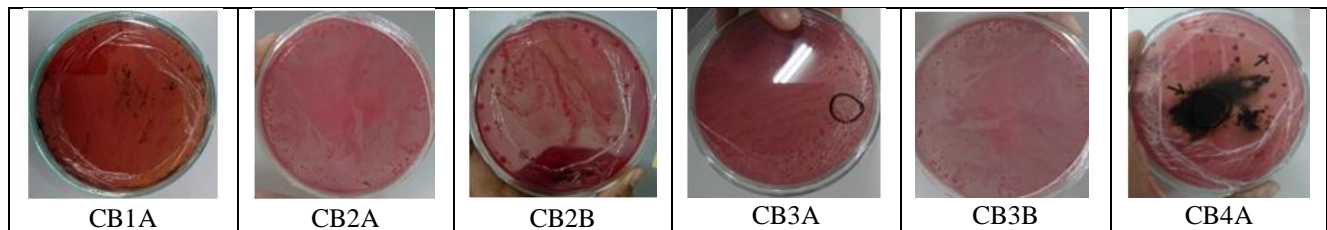
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri *Enterobacteriaceae* Asal Cobek Batu Gado-Gado

Berdasarkan hasil isolasi bakteri dari 5 cobek batu gado-gado diperoleh 6 isolat bakteri. Masing-masing

isolat memiliki karakter morfologi koloni yang bervariasi saat ditumbuhkan pada medium cawan SSA (**Gambar 1**). Karakter morfologi makroskopis koloni 6 isolat bakteri enterik yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Isolasi *Enterobacteriaceae* pada penelitian ini menggunakan medium SSA. Medium SSA merupakan medium selektif diferensial yang dapat digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella* dan *Shigella* juga bakteri enterik lainnya seperti *Enterococcus*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Serratia*, dan *Klebsiella*. *Bile salt* pada SSA dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif pada medium (Mailissa et al., 2022). Medium SSA mengandung laktosa berguna untuk membedakan bakteri enterik yang mampu memfermentasi laktosa dengan yang tidak. Proses fermentasi laktosa yang terjadi mengakibatkan kondisi medium menjadi asam (pH rendah). Kondisi asam pada medium ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada koloni yang tumbuh akibat reaksi *neutral red* pada medium. Sedangkan bakteri yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan tumbuh dengan koloni transparan (*colourless*). Endapan hitam yang terbentuk ditengah koloni merupakan H_2S (hidrogen sulfida) yang dihasilkan oleh bakteri yang tumbuh pada medium SSA. Gas H_2S dilepaskan oleh bakteri yang mampu mereduksi sodium tiosulfat menjadi sulfid. Gas H_2S tidak berwarna tetapi *ferric citrate* dalam medium SSA dapat bereaksi dengan gas H_2S sehingga terbentuk endapan hitam ferro sulfida yang terlihat di tengah koloni (Wijaya et al., 2021).



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri *Enterobacteriaceae* dari cobek batu gado-gado

Tabel 2. Karakter morfologi makroskopis koloni isolat bakteri asal cobek batu gado-gado pada medium cawan SSA

Kode Isolat	Karakter Koloni
CB1A	Koloni berwarna merah muda dan ada endapan hitam ditengah koloni, koloni kecil, halus dan elevasi cembung.
CB1B	Koloni berwarna merah muda tanpa endapan hitam di tengah koloni, koloni bulat dan mukoid.
CB2A	Koloni berwarna merah muda tanpa endapan hitam ditengah koloni, elevasi datar, dan tepi tidak beraturan.
CB2B	Koloni berwarna merah muda tanpa endapan hitam ditengah koloni, elevasi datar, dan tepi tidak beraturan.
CB3B	Koloni berwarna merah muda tanpa endapan hitam ditengah koloni, levasi datar, dan tepi tidak beraturan.
CB4A	Koloni tampak transparan dan ada endapan hitam di tengah koloni, bentuk koloni bulat kecil, cenderung cembung dengan tepi rata.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan metode pewarnaan diferensial untuk membedakan kelompok bakteri berdasarkan reaksi dinding sel bakteri dengan zat pewarna. Bakteri berdasarkan reaksi pewarnaan Gram dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram terhadap 6 isolat bakteri enterik asal air bilasan cobek batu dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri asal cobek batu gado-gado

Kode Isolat	Bentuk Sel	Reaksi Gram
CB1A	Batang	Negatif
CB1B	Batang	Negatif
CB2A	Batang	Negatif
CB2B	Batang	Negatif
CB3B	Batang	Negatif
CB4A	Batang	Negatif

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri merupakan kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang (basil). Reaksi Gram negatif pada pewarnaan Gram ditandai dengan warna merah di permukaan luar sel (dinding sel) yang tampak dibawah mikroskop. Warna merah terjadi akibat reaksi pengikatan dinding sel oleh zat pewarna ke-2 atau pewarna tandingan yaitu safranin. Kristal violet yang mulanya terikat pada dinding sel Gram negatif mengalami peluruhan saat pemberian alkohol 96%. Hal ini disebabkan komposisi penyusun dinding sel Gram negatif didominasi oleh lipid. Lipid akan mudah terurai saat kontak dengan alkohol sehingga menyebabkan zat warna

pertama yaitu kristal violet ikut terurai bersama lipid saat pemberian alkohol 96% (Oktaviani et al., 2022). Bakteri *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang (Moxley, 2022).

Karakterisasi Biokimia

Karakterisasi biokimia pada penelitian ini meliputi uji Indol, *Methyl Red*, *Voges-Proskauer*, Sitrat, TSIA, dan uji katalase. Hasil uji biokimia terhadap 6 isolat bakteri enterik asal cobek batu gado-gado dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Karakterisasi biokimia *Enterobacteriaceae* asal cobek batu gado-gado

Uji Biokimia	CB1A	CB1B	CB2A	CB2B	CB3B	CB4A
Indol	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Motilitas	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
MR	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
VP	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
Sitrat	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Katalase	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
TSIA	A/A	A/A	A/A	A/A	AK/A	AK/A
Gas CO ₂	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
H ₂ S	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
Hasil Identifikasi	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Serratia fonticola</i>	<i>Salmonella enterica</i>

Keterangan: (+): hasil positif/ada; (-): hasil negatif/tidak ada; A/A: *slant* asam/*butt* asam; AK/A: *slant* alkalin/*butt* asam

Berdasarkan uji biokimia diketahui bahwa seluruh isolat bakteri enterik asal cobek batu gado-gado bersifat negatif indol. Negatif indol menunjukkan bahwa bakteri tidak menghasilkan enzim triptofanase sehingga tidak mampu memetabolisme triptofan dan mengubahnya menjadi indol (Cahyaningtyas et al., 2024). Negatif indol ditunjukkan oleh tidak terbentuknya cincin merah pada permukaan medium tabung tegak semisolid SIM setelah pemberian reagen *Kovac's*. Sebagian besar *Enterobacteriaceae* tidak menghasilkan indol di dalam medium yang mengandung triptofan (Garrity, 2007).

Seluruh isolat menunjukkan hasil positif pada uji sitrat dan katalase. Hasil positif sitrat ditandai dengan terjadinya perubahan warna medium SCA dari hijau menjadi biru prusia setelah inkubasi 24 jam. Medium SCA mengandung sitrat yang menjadi satu-satunya sumber karbon dalam pertumbuhan bakteri. Kemampuan bakteri menggunakan sitrat tergantung dari kemampuan untuk mentransportasikan sitrat ke dalam sel. *Citruse* atau *citrate lyase* memecah sitrat menjadi asetat dan oksaloasetat. Kemudian oksaloasetat didekarboksilasi membentuk piruvat dan CO₂. Ammonium fosfat yang terkandung pada medium digunakan oleh bakteri sebagai sumber nitrogen dan menghasilkan amoniak. Amoniak yang dihasilkan bereaksi dengan CO₂ yang dilepaskan ke medium hasil dari dekarboksilasi. Hal ini meningkatkan alkalinitas atau pH medium. Alkalinitas medium menyebabkan indikator pH bromtimol biru yang berwarna hijau pada pH netral berubah menjadi biru gelap atau biru Prusia (Fallo & Sine, 2016). Kebanyakan *Enterobacteriaceae* bersifat katalase positif. Katalase positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih setelah kultur dicampurkan dengan hidrogen peroksida (H₂O₂)

3%. Bakteri yang bersifat katalase positif diketahui menghasilkan enzim katalase untuk mendegradasi H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ sehingga tidak bersifat toksik bagi sel (Cahyaningtyas et al., 2024).

Hasil uji MR-VP menunjukkan hasil yang seragam pada 5 isolat yaitu positif MR dan negatif VP. Isolat CB1B satu-satunya isolat yang bersifat negatif MR dan positif VP. Uji MR bertujuan untuk membedakan bakteri enterik pengoksidasi glukosa menghasilkan asam sebagai produk akhir. Hasil positif menunjukkan bahwa bakteri mampu memanfaatkan glukosa sebagai substrat utama menghasilkan asam piruvat selanjutnya secara enzimatik dimetabolisme menjadi asam organik seperti asam laktat, asam format, dsb. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna medium dari kuning menjadi merah disebabkan kondisi pH medium berada pada pH 4 atau lebih rendah. Positif VP menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan substansi non asam atau produk akhir bersifat netral seperti asetilmetilkarbinol (asetoin) sebagai hasil metabolisme glukosa (Cahyaningtyas et al., 2024).

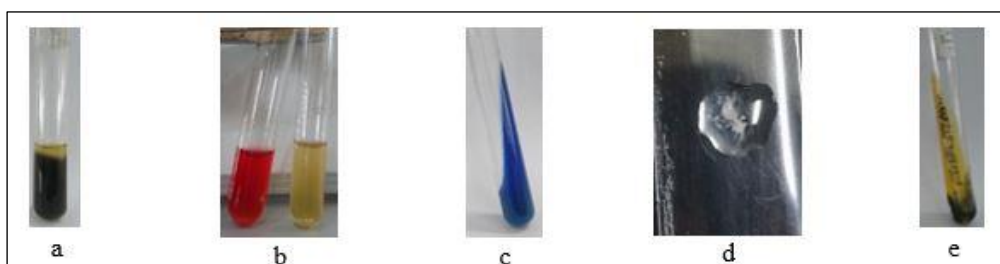
Seluruh isolat bakteri asal cobek batu menunjukkan hasil yang bervariasi pada uji TSIA (**Gambar 2-7**). Uji TSIA digunakan untuk membedakan anggota *Enterobacteriaceae* dengan bakteri basil enterik Gram negatif lainnya. Perbedaan didasarkan pada kemampuan memfermentasi jenis karbohidrat, produksi CO₂ dan produksi H₂S. Isolat CB1A, CB1B, CB2A, dan CB2B diketahui memiliki sifat mampu memfermentasi ketiga jenis gula yaitu glukosa, sukrosa, dan laktosa pada medium TSIA. Hal tersebut ditandai dengan terjadi perubahan warna medium dari jingga menjadi kuning baik pada bagian *slant* maupun bagian *butt* medium. Warna kuning pada medium menunjukkan bahwa pH

medium berada pada kisaran pH asam (Kundera *et al.*, 2020). Sedangkan, isolat CB3B dan CB4A hanya mampu memfermentasi jenis gula glukosa selama pertumbuhannya di dalam medium TSIA. Fermentasi tersebut ditandai dengan terjadi perubahan warna menjadi kuning (asam) pada bagian *butt* dan merah (alkalin) pada bagian *slant* medium. Konsentrasi glukosa yang sangat sedikit yaitu 0,1% menyebabkan produksi asam yang sedikit segera dioksidasi. Bagian bawah medium (*butt*) bersifat asam (kuning) akibat tekanan oksigen yang rendah dan pertumbuhan bakteri yang lambat. Pemanfaatan pepton menyebabkan bagian dasar medium (*slant*) bersifat alkalin (merah). Isolat CB1B dan CB4A memproduksi gas CO₂ selama fermentasi di dalam medium TSIA yang ditandai dengan terjadi retak atau medium terangkat ke atas. Isolat CB1A dan CB4A dapat memproduksi H₂S di dalam medium TSIA yang mengandung Na-tiosulfat sebagai substratnya ditandai dengan terbentuk endapan hitam pada medium. Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan sifat biokimianya (Mailissa *et al.*, 2022).

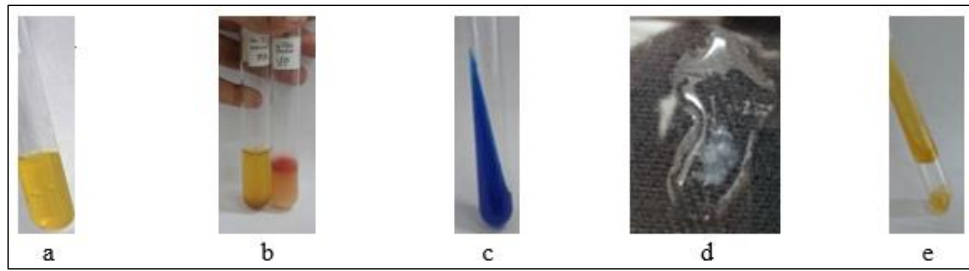
Berdasarkan hasil identifikasi biokimia mengacu pada buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2007) terhadap seluruh isolat bakteri *Enterobacteriaceae* asal cobek batu diketahui bahwa isolat CB1A merupakan *Proteus mirabilis*, isolat CB1B adalah *Klebsiella pneumoniae*, isolat CB2A dan CB2B adalah *Enterobacter* sp., isolat CB3B adalah *Serratia fonticola*, dan isolat CB4B adalah *Salmonella enterica*. *Proteus mirabilis* dapat ditemukan di air yang terkontaminasi oleh air seni, bakteri ini sering menjadi patogen penyebab infeksi saluran kemih terutama infeksi akibat penggunaan kateter. Bakteri ini termasuk patogen yang sulit diterapi karena sifatnya yang persisten (Yuan *et al.*, 2021). *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri patogen penyebab infeksi paru, bakteri ini dapat diisolasi dari sputum manusia, hasil uji biokimia *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan hasil positif pada uji *Voges-Proskauer*, *Simmon's citrate*, dan TSIA (fermentasi karbohidrat), tetapi menunjukkan reaksi negatif pada indol, *Methyl red*, dan motilitas (Patilaya *et al.*, 2019). *Enterobacter* sp. termasuk flora normal pada saluran pencernaan manusia dan hewan, keberadaan bakteri ini

biasanya disebabkan kontaminasi oleh feses, selain itu *Enterobacter* sp. juga dapat ditemukan di permukaan tubuh hewan vektor seperti kecoa (Rihibiha & Friliansari, 2021). *Serratia fonticola* ditemukan pada air dan tanah, selain itu juga ditemukan pada abses kaki, penyebab infeksi saluran empedu dan infeksi endokarditis (Espinoza *et al.*, 2021). *Salmonella enterica* diketahui sebagai bakteri patogen penyebab infeksi demam tifoid (Kurniati *et al.*, 2022).

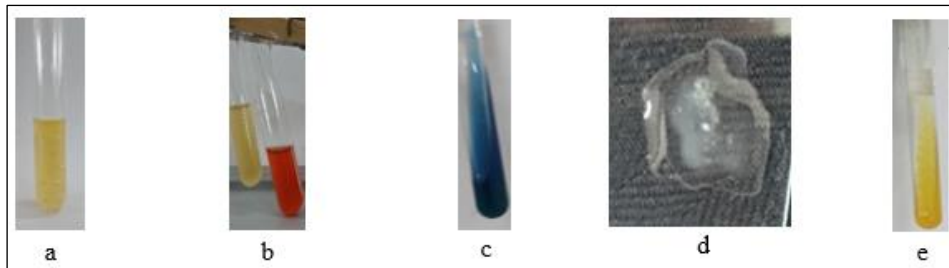
Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri enterik yang tersebar luas di dunia. Bakteri ini ditemukan di tanah, air, buah, daging, telur, sayuran, dan tubuh hewan (Shodikin *et al.*, 2023; Rihibiha & Friliansari, 2021). Sebagian besar *Enterobacteriaceae* bersifat patogen pada manusia. *Enterobacteriaceae* menyebabkan berbagai penyakit infeksi diantaranya yaitu diare yang ditularkan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi, septicemia, infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran kemih, infeksi luka dan luka bakar, serta meningitis. *Enterobacteriaceae* juga berperan sebagai agen penyebab penyakit nosokomial (Rahayu *et al.*, 2022). Gado-gado adalah makanan yang terbuat dari sebagian besar sayuran mentah atau direbus setengah matang. Keberadaan *Enterobacteriaceae* pada cobek batu dapat diduga berasal dari sayuran yang telah terkontaminasi bakteri. Al-Kharousi *et al.* (2019) melaporkan bahwa pada buah dan sayuran segar ditemukan genus *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, dan *Serratia*. Selain itu, penggunaan air yang terkontaminasi kotoran untuk mencuci sayuran juga berpeluang mengontaminasi sayuran pada gado-gado. Kebersihan perilaku penjual dan sanitasi lingkungan area penjualan gado-gado juga turut berkontribusi dalam kontaminasi cobek batu gado-gado. Yuniatun *et al.* (2017) menjelaskan bahwa terdapat korelasi antara kualitas mikrobiologis gado-gado dengan perilaku dan higienitas sanitasi tempat penjualan gado-gado. Tempat penyimpanan bahan gado-gado dan cobek batu di tempat yang terbuka berpeluang tercemar oleh debu, serangga, dan tikus. Serangga seperti lalat dan kecoa diketahui berperan sebagai vektor kontaminasi bakteri *Enterobacteriaceae* (Rihibiha & Friliansari, 2021; Aji, 2020; Kundera *et al.*, 2020).



Gambar 2. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB1A. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



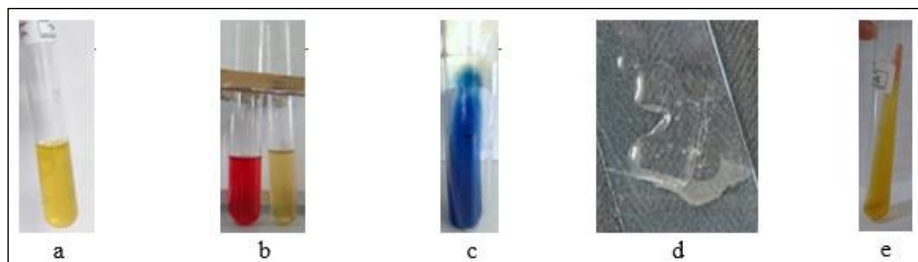
Gambar 3. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB1B. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



Gambar 4. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB2A. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



Gambar 5. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB2B. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



Gambar 6. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB3B. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



Gambar 7. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB4A. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA

Kepekaan *Enterobacteriaceae* terhadap Antibiotik

Uji kepekaan antibiotik pada penelitian ini ditentukan dengan cara pengukuran zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram antibiotik. Kepekaan

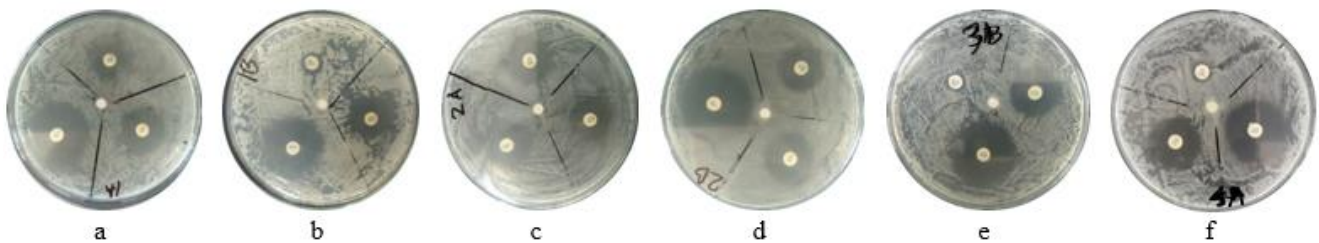
terhadap antibiotik dibedakan menjadi tiga kriteria yaitu sensitif (S), intermediet (I), dan resisten (R) (CLSI, 2021). Isolat *Enterobacteriaceae* menunjukkan sifat kepekaan yang bervariasi terhadap antibiotik uji (**Tabel 5**).

Tabel 5. Kepekaan *Enterobacteriaceae* terhadap antibiotik

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm) / [Kriteria Kepekaan terhadap Antibiotik]		
	Amoxicillin 20 µg	Chloramphenicol 30 µg	Tetracycline 30 µg
CB1A (<i>Proteus mirabilis</i>)	16±0,70 [I]	28±0,28 [S]	21,5±0,00 [S]
CB1B (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	8,5±0,00 [R]	22±0,00 [S]	24±0,14 [S]
CB2A (<i>Enterobacter</i> sp.)	14±0,42 [I]	28±0,00 [S]	21±0,14 [S]
CB2B (<i>Enterobacter</i> sp.)	26±0,14 [S]	33,5±0,00 [S]	22,5±0,00 [S]
CB3B (<i>Serratia fonticola</i>)	6,5±0,00 [R]	25±0,00 [S]	27±0,00 [S]
CB4A (<i>Salmonella enterica</i>)	7,5±0,00 [R]	24,5±0,00 [S]	24±0,42 [S]

Seluruh isolat *Enterobacteriaceae* menunjukkan sifat sensitif terhadap *chloramphenicol* dan *tetracycline* (**Gambar 8**). Sifat sensitif ini menunjukkan bahwa *chloramphenicol* dan *tetracycline* efektif menghambat pertumbuhan *Enterobacteriaceae* pada penelitian ini. Kedua antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat proses translasi sel. *Chloramphenicol* mengikat ribosom subunit 50S mengakibatkan proses sintesis protein terhambat. Resistensi bakteri terhadap *chloramphenicol*

disebabkan oleh teraktivasi enzim CAT (*chloramphenicol acetyltransferase*) iredehingga menginaktivasi *chloramphenicol* (Nurtjahyani, 2014). *Tetracycline* memblokir proses translasi dengan cara mengikat ribosom subunit 30S. Prinsip mekanisme resistensi bakteri terhadap *tetracycline* yaitu dengan cara pompa *efflux* dan proteksi ribosom (Roberts & Schwarz, 2017).

**Gambar 8.** Uji Kepekaan isolat *Enterobacteriaceae* asal cobek batu gado-gado terhadap antibiotik amoxicillin, chloramphenicol, dan tetracycline

Tiga isolat yaitu isolat CB1B (*Klebsiella pneumoniae*), CB3B (*Serratia fonticola*), dan CB4A (*Salmonella enterica*) bersifat resisten terhadap amoxicillin, dua isolat yaitu CB1A (*Proteus mirabilis*) dan CB2A (*Enterobacter* sp.) bersifat intermediet terhadap amoxicillin, dan satu isolat yaitu CB2B (*Enterobacter* sp.) bersifat sensitif terhadap amoxicillin. Amoxicillin merupakan antibiotik semisintetik derivat dari penisilin golongan beta-laktam yang secara struktural sebanding dengan ampisilin tetapi lebih mudah diserap oleh tubuh. Antibiotik ini berspektrum luas dan efektif digunakan untuk melawan beberapa bakteri penyebab infeksi paru, abses gigi, infeksi saluran kemih, dan infeksi telinga pada anak. Amoxicillin bekerja dengan cara menghambat sintesis transpeptidasi pada peptidoglikan sehingga menyebabkan lisis pada dinding sel bakteri (Fazulbhoy et al., 2021). Resistensi bakteri Gram negatif terhadap antibiotik golongan beta-laktam sering ditemukan. Hal ini disebabkan kemampuan bakteri menghasilkan berbagai enzim beta-laktamase yang dapat mendegradasi cincin beta-laktam pada struktur penyusun antibiotik sehingga menjadi inaktif (Patilaya et al., 2019). Resistensi antibiotik dapat disebabkan oleh faktor genetik atau non genetik. Sifat genetik menyebabkan suatu strain

membawa sifat resisten antibiotik secara alamiah. Suatu strain yang semula sensitif terhadap antibiotik tertentu kemudian berubah menjadi tidak sensitif terhadap antibiotik tersebut, hal ini dapat disebabkan strain tersebut memperoleh transfer elemen genetik pembawa sifat resisten dari strain lain di lingkungannya (Suarnata et al., 2018). Isolat CB2B (*Enterobacter* sp.) bersifat sensitif terhadap amoxicillin diduga isolat tersebut tidak memiliki faktor penyebab resisten (Iredell et al., 2016). Sifat intermediet suatu strain bakteri terhadap antibiotik dalam suatu pengujian menggunakan metode Kirby-Bauer dapat dipengaruhi oleh faktor teknis pengujian yang perlu dievaluasi kembali (CLSI, 2021).

Keberadaan *Enterobacteriaceae* yang bersifat resisten terhadap antibiotik pada penelitian ini dapat diduga berasal dari kontaminasi dan faktor sanitasi yang rendah seperti penggunaan cobek batu yang berkali-kali tanpa pencucian selama seharian dan tempat penyimpanan cobek batu di ruang terbuka. Penyimpanan cobek batu di ruang terbuka memberi potensi terjadinya kontaminasi mikrob yang dibawa oleh debu, dan serangga. Aji (2020) melaporkan bahwa *Enterobacteriaceae* yang diisolasi dari lalat (*Musca domestica*) membawa sifat resistensi terhadap

amoxicillin, chloramphenicol, dan tetracycline. *Escherichia coli*, *Salmonella arizonae*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Proteus mirabilis* yang diisolasi dari permukaan kaki kecoa (*Periplaneta americana*) bersifat resisten terhadap amoxicillin dan chloramphenicol. Keberadaan Enterobacteriaceae yang bersifat resisten terhadap antibiotik tentunya dapat membahayakan kesehatan konsumen dan menurunkan kualitas gado-gado. Kontaminasi mikrob pada cobek batu gado-gado dapat dikendalikan dengan memperbaiki sanitasi bahan dan alat yang digunakan.

KESIMPULAN

Diperoleh enam isolat Enterobacteriaceae dari cobek batu gado-gado yaitu isolat CB1A (*Proteus mirabilis*), isolat CB1B (*Klebsiella pneumoniae*), isolat CB2A dan CB2B (*Enterobacter* sp.), isolat CB3B (*Serratia fonticola*), dan isolat CB4B (*Salmonella enterica*). *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia fonticola*, dan *Salmonella enterica* bersifat resisten terhadap Amoxicillin, *Proteus mirabilis* dan *Enterobacter* sp. bersifat intermediet terhadap amoxicillin, dan *Enterobacter* sp. bersifat sensitif terhadap amoxicillin. Seluruh isolat Enterobacteriaceae bersifat sensitif terhadap chloramphenicol dan tetracycline.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, O. R. (2020). Analisis resistensi antibiotik pada bakteri yang berasosiasi dengan lalat (*Musca domestica*). *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 12(1), 11-16.
- Al-Kharousi, Z.S., Guizani, N., Al-Sadi, A.M., & Al-Bulushi, I.M. (2019). Antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated from fresh fruits and vegetables and characterization of their AmpC β -lactamases. *Journal of food protection*, 82(11), 1857-1863.
- Anita, Tosepu, R., Nirmala G.F. (2022). Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp pada gado-gado yang dijual area kampus Universitas Halu Oleo Tahun 2021. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Celebes*, 3(1), 1-8.
- Aviat, F., Gerhards, C., Rodriguez-Jerez, J.J., Michel, V., Bayon, I.L., Ismail, R., & Federighi, M. (2016). Microbial safety of wood in contact with food: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(3), 491-505.
- Cahyaningtyas, D.E., Gaina, C.D., & Tangkonda, E. (2024). Isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., dan *Staphylococcus aureus* pada ambing dan susu kambing peranakan etawa. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 7(1), 41-52.
- Cappucino, J.G. & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A Laboratory Manual*. 10th ed. Boston: Pearson.
- CLSI. Clinical Laboratory Standard Institute. (2021). *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 31st ed*. USA: CLSI
- De Angelis, G., Del Giacomo, P., Posteraro, B., Sanguinetti, M., & Tumbarello, M. (2020). Molecular mechanisms, epidemiology, and clinical importance of β -lactam resistance in Enterobacteriaceae. *International journal of molecular sciences*, 21(14), 5090.
- Espinoza, V., Valdez, M., Burcovschi, S., Fong, I., Petersen, G., & Heidari, A. (2021). The first case report of endocarditis caused by *Serratia fonticola*. *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports*, 9, 1-3.
- Fallo, G., & Sine, Y. (2016). Isolasi dan uji biokimia bakteri selulolitik asal saluran pencernaan rayap pekerja (*Macrotermes* spp.). *BIO-EDU: Jurnal Pendidikan Biologi*, 1(2), 27-29.
- Fazulbhoj, R., Khan, A., D'souza, L. A., Dave, N., & Chandu, P. (2021). A comparative analysis of amoxicillin and cefuroxime. *Int J Sci Res Sci Technol*, 8, 96-124.
- Garrity, G. (2007). *Bergey's manual® of systematic bacteriology: volume 2: the Proteobacteria, part B: the Gammaproteobacteria (Vol. 2)*. USA: Springer Science & Business Media.
- Iredell, J., Brown, J., & Tagg, K. (2016). Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. *BMJ* 352: h6420.
- Kemenkes RI. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2003). *Kepmenkes RI No. 942/MENKES/SK/ VII/ 2003 tentang Pedoman Persyaratan Hygiene Sanitasi Makanan Jajanan*. Jakarta: Kemenkes.
- Kundera, I.N., Sapu, E.H., & Bialangi, M. (2020). Identification of bacteria on cockroach feet (*Periplaneta americana*) in resident bay of palu permai and sensitivity test against antibiotics. *Techno: Jurnal Penelitian*, 9(1), 353-362.
- Kurniati, E., Retnaningrum, E., Wijayanti, N., & Wibawa, T. (2022). The diversity and susceptibility against antibiotics of *Salmonella* spp. clinical isolates from Yogyakarta, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(11).
- Mailissa, M.R., Budiarmo, T.Y., & Amarantini, C. (2022). screening bakteri coliform pada air minum isi ulang di damiu, kec. Umbulharjo Yogyakarta. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 10, 212-219.
- Moxley, R.A. (2022). Family Enterobacteriaceae. Dalam: , D.S. McVey, M. Kennedy, & C. Czuprynski (Eds). *Veterinary Microbiology* (4th ed, 43-107). USA: Wiley Blackwell.
- Nurhayati, N., Ruriani, E., & Fitriana, I. (2024). Biosafety of gado-gado street food around Jember campus. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1338 (1), 012042.
- Nurtjahyani, S.D. (2014). Role of chloramphenicol acetyltransferase (cat) enzyme for early detection of chloramphenicol resistant *Salmonella typhi*. *Microbiology Indonesia*, 8(2), 6.
- Oktaviani, N., Sulistiyawati, I., & Rahayu, N.L. (2022). Isolasi dan karakterisasi umum mikroba yang diduga enterobacteriaceae pada jajanan di wilayah

- Purwokerto menggunakan medium EMBA. *Scientific Timeline*, 2(1), 41-51.
- Patilaya, P., Husori, D.I., & Marhafanny, L. (2019). Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* isolated from pus specimens of post-surgery patients in Medan, Indonesia to selected antibiotics. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(22), 3861.
- Rahayu, P.M., Hartati, H., & Sulfiani, S. (2022). Identification of bacteria in the urine of women with urinary tract infections (Uti) At Primaya Hospital Makassar. *International Journal of Health and Pharmaceutical (IJHP)*, 2(3), 460-462.
- Rihibiha, D., & Friiliansari, L.P. (2021). Isolasi *Enterobacteriaceae* pada kecoa (*Periplaneta americana*) di area perumahan di kota Cimahi. *Jurnal Kesehatan Kartika*, 16(1), 17-21.
- Roberts, M.C., & Schwarz, S. (2017). Tetracycline and chloramphenicol resistance mechanisms. Dalam: D.L. Mayers, J.D. Sobel, M. Ouellette, K.S. Kaye, D. Marchaim (Eds.). *Antimicrobial drug resistance: mechanisms of drug resistance, volume 1* (2nd ed, 231-243). Switzerland: Springer International Publishing.
- Sedláková, M.H., Urbánek, K., Vojtová, V., Suchánková, H., Imwensi, P., & Kolář, M. (2014). Antibiotic consumption and its influence on the resistance in *Enterobacteriaceae*. *BMC research notes*, 7, 1-10.
- Shodikin, M.A., Suswati, E., Hermansyah, B., Utami, W.S., Aryadina, D., & Amirsyah, N.N.O. (2023). The correlation between food hygiene and sanitation in food vendors of lalapan with *Enterobacteriaceae* contamination in fresh vegetables. *Journal of Health Sciences*, 16(01), 66-76.
- Suarnata, I.W., Suarjana, I.G.K., & Rompis, A.L.T. (2018). *Enterobacter* sp. pada sapi Bali menurut geografis dan tingkat kedewasaan serta pola kepekaannya terhadap antibiotika. *Buletin Veteriner Udayana Volume*, 10(2), 154-161.
- Wijaya, S.N., Ariestanti, C.A., & Budiarmo, T.Y. (2021). deteksi bakteri enteropatogen pada produk makanan jajanan tahu. *Prosiding ESEC*, 2(1), 139-147.
- Yuan, F., Huang, Z., Yang, T., Wang, G., Li, P., Yang, B., & Li, J. (2021). Pathogenesis of *Proteus mirabilis* in catheter-associated urinary tract infections. *Urologia internationalis*, 105(5-6), 354-361.
- Yuniatun, T., Martini, M., Purwantisari, S., & Yuliatun, S. (2017). Hubungan higiene sanitasi dengan kualitas mikrobiologis pada makanan gado-gado di Kecamatan Tembalang Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 5(4), 491-499.