

**PENGARUH AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK LADA HITAM
(*Piper nigrum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Shigella dysenteriae SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh :
Indah Kurnia Putri Waruwu
2018011021



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**PENGARUH AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK LADA HITAM
(*Piper nigrum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Shigella dysenteriae SECARA *IN VITRO***

Oleh :

Indah Kurnia Putri Waruwu

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2024

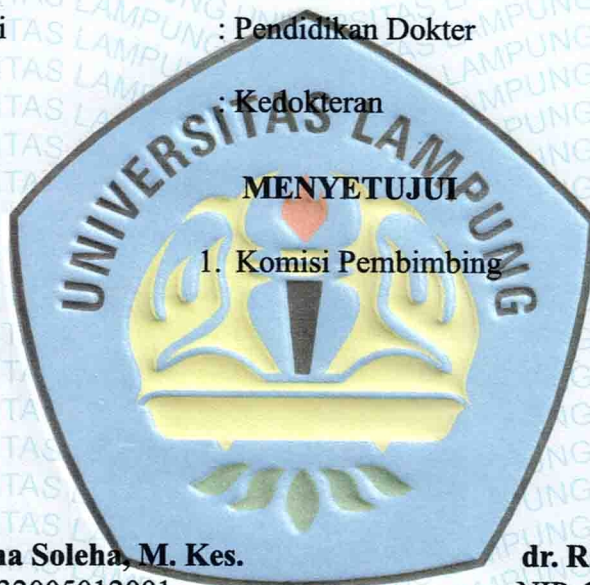
Judul Skripsi : **PENGARUH AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK LADA HITAM (*Piper nigrum L.*)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Shigella dysenteriae SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Indah Kurnia Putri Waruwu**

No. Pokok Mahasiswa : 2018011021

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



1. Komisi Pembimbing


dr. Tri Umiana Soleha, M. Kes.
NIP. 197609032005012001


dr. Rani Himayani, Sp. M.
NIP. 198312252009122004

2. Dekan Fakultas Kedokteran

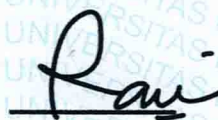

Dr. dr. Evi Kurniawaty, M. Sc.
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji
Ketua : **dr. Tri Umiana Soleha, M. Kes.**



Sekretaris : **dr. Rani Himayani, Sp. M.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. dr. Evi Kurniawaty, M. Sc.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M. Sc.
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **15 Februari 2024**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK LADA HITAM (*Piper nigrum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae* SECARA *IN VITRO*”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam akademik atau yang dimaksud dengan plagiarism.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 15 Februari 2024

Pembuat Pernyataan,



Indah Kurnia Putri Waruwu

RIWAYAT HIDUP

Indah Kurnia Putri Waruwu lahir di Tangerang pada tanggal 14 April 2002. Penulis merupakan anak semata wayang yang lahir dari pasangan Bapak Hatöli Waruwu dan Ibu Marlianti Lömbu. Pendidikan formal yang ditempuh oleh penulis dimulai pada jenjang Taman Kanak-kanak (TK) di TK Bhinneka yang selesai pada tahun 2008, yang kemudian dilanjutkan di Sekolah Dasar (SD) Bhinneka yang selesai pada tahun 2014, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Tarsisius Vireta pada tahun 2017 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negeri 2 Kota Tangerang pada tahun 2020. Pada tahun yang sama setelah penulis menamatkan pendidikan di jenjang SMA-nya, penulis melanjutkan pendidikan pada jenjang perguruan tinggi dan diterima sebagai mahasiswa baru di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa aktif di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, penulis pernah aktif sebagai anggota Lembaga Kemahasiswaan LUNAR (*Lampung University Medical Research*) FK Unila dan juga sempat diberikan kepercayaan untuk menjadi Sekretaris Divisi *SnP* (*Social and Partnership*) LUNAR FK Unila pada periode 2021-2022. Penulis juga aktif pada organisasi CIMSA (*Center for Indonesian Medical Students' Activities*) FK Universitas Lampung sebagai anggota organisasi.

*Sebuah Persembahan Sederhana dan Berharga
untuk Mama dan Papa*

*“Sungguh, Allah itu keselamatanku; aku percaya dengan tidak gemetar,
sebab TUHAN ALLAH itu kekuatanku dan mazmurku,
Ia telah menjadi keselamatanku.”*

Yesaya 12:2

SANWACANA

Segala Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang selalu membimbing dan menyertai kehidupan penulis sehingga hanya karena berkat dan karunia-Nya lah penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik sampai selesai. Skripsi ini ditulis dengan judul **“Pengaruh Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*”**.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis menyadari bahwa penulis banyak sekali mendapatkan bimbingan, bantuan, masukan, arahan, dorongan serta kritik dan saran dari berbagai pihak sehingga semuanya dapat berjalan dengan baik dan lancar. Dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus yang senantiasa menyertai kehidupan penulis serta membimbing penulis dalam seluruh kegiatan perkuliahan dan juga penelitian penulis.
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D. E. A. IPM selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M. Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
4. Dr. dr. Indri Windarti, S. Ked., Sp. PA. selaku Ketua Jurusan Kedokteran Universitas Lampung dan Pembimbing Akademik penulis selama perkuliahan.
5. Dr. dr. Khairunnisa Berawi, S.Ked., M.Kes., AIFO selaku Kepala Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

6. dr. Tri Umiana Soleha, M. Kes. selaku Pembimbing Utama, yang telah bersedia untuk meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing skripsi, memberikan kritik, saran, serta nasihat dan dorongan dalam penyusunan skripsi ini. Terimakasih atas ilmu, arahan, serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini.
7. dr. Rani Himayani, Sp. M. selaku Pembimbing Kedua, yang telah bersedia untuk meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing skripsi, memberikan kritik, saran, serta nasihat dan dorongan dalam penyusunan skripsi ini. Terimakasih atas ilmu, arahan, serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini.
8. Dr. dr. Evi Kurniawaty, M. Sc. selaku Pembahas, atas kesediaannya untuk meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terimakasih atas ilmu, arahan, serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini.
9. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yang telah bersedia membimbing, memberikan ilmu dan waktu selama perkuliahan.
10. Seluruh Laboran yang sudah membantu peneliti selama proses penelitian di laboratorium yaitu Laboran Laboratorium Kimia Organik FMIPA, Laboran Laboratorium Botani FMIPA, Laboran Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi FMIPA Universitas Lampung.
11. Papa tersayang, Hatöli Waruwu, atas doa, cinta dan kasihnya, nasihat, teguran, dan bimbingan yang terus menerus diberikan untuk memotivasi dan memberikan penulis semangat untuk terus berusaha dalam mewujudkan cita-cita penulis. Terimakasih atas kasih sayang dan kepercayaan yang telah diberikan papa kepada anaknya ini.
12. Mama tersayang, Marlianti Lömbu, atas doa, cinta dan kasihnya, nasihat, teguran, dan bimbingan yang terus menerus diberikan untuk memotivasi dan memberikan penulis semangat untuk terus berusaha dalam mewujudkan cita-cita penulis. Terima kasih atas kasih sayang dan kepercayaan yang telah diberikan mama kepada anaknya ini.

13. Om Witness, Ide, Witness dan juga Haga, atas doa, motivasi, semangat, nasihat, dan bimbingan yang terus menerus diberikan dalam berbagai hal untuk memotivasi dan menyemangati penulis dalam meraih cita-citanya. Terima kasih atas dorongan yang selama ini telah diberikan.
14. Nenek Humene, atas doa, motivasi, arahan dan dorongan yang diberikan. Terimakasih banyak nenek karena sudah senantiasa membawa penulis ke dalam doa-doa yang dipanjatkan untuk cucunya.
15. Keluarga besar yang tersayang, atas doa, dukungan dan nasihat yang diberikan. Kiranya Tuhan Yesus senantiasa memberkati kita semua.
16. Teman-teman “T20MBOSIT”, atas semua perhatian dan dukungan yang tulus menyertai perjalanan saya selama kuliah di preklinik. Semoga kita meraih kesuksesan bersama di masa mendatang dan diberikan kelancaran dalam hal apapun yang ditempuh dalam kehidupan ini.
17. Teman-teman terdekat saya, Devina, Vania, Debora, Syalwa, dan Sheilla atas kesediannya dalam menemani masa-masa perkuliahan penulis di preklinik yang penuh dengan lika-liku kehidupan. Kiranya Tuhan Yang Maha Esa senantiasa berada bersama kita semua.
18. Teman-teman seperbimbingan skripsi, Brigitta, Abrilla, Regita, Nahra, Fahman, Oktaryona, Faadhil, Ganessa, Fasya, Farah atas kesediaannya menemani masa-masa bimbingan skripsi bersama dan senantiasa menjadi tempat berkeluh kesah selama bimbingan skripsi. Semoga kalian sukses selalu.
19. Teman-teman “3DAN”, Alip, Lintang, Vania, Isan, Billbill, Brigg, Nahra, Dapuk, Nanad, Raysa dan Nurull, atas kesediannya menemani masa-masa adaptasi di semester awal perkuliahan preklinik yang sangat seru dan penuh kejutan. Semoga kalian semua sukses.
20. Teman-teman lainnya yang mungkin belum saya sebutkan dalam lembaran ini, terima kasih saya ucapkan sebesar-besarnya atas bantuan, bimbingan, dan kesediannya menemani saya selama ini selama perkuliahan. Semoga kalian semua sukses.

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak sekali kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan juga kritik yang bersifat membangun demi perbaikan skripsi ini. Penulis berharap agar sekiranya skripsi ini dapat menjadi berkat dengan memberikan manfaat bagi orang banyak dan dapat memberikan tambahan pengetahuan maupun informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 15 Februari 2024

Penulis

Indah Kurnia Putri Waruwu

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY EFFECT OF BLACK PEPPER EXTRACT (*Piper nigrum L.*) ON THE GROWTH OF *Shigella dysenteriae* IN VITRO

By

INDAH KURNIA PUTRI WARUWU

Background: *Shigella dysenteriae* bacteria are bacteria that can cause bacillary dysentery or shigellosis which is susceptible to children. Nowadays, various cases of antibiotic resistance in *Shigella dysenteriae* bacteria against different types of antibiotics have emerged. Black pepper (*Piper nigrum L.*) is one of the plants that has the potential as a source of antibacterial properties because black pepper contains various secondary metabolite compounds such as alkaloids, saponins, tannins and flavonoids which exhibit antibacterial activity. This study aims to determine the effect of the antibacterial activity of black pepper extract (*Piper nigrum L.*) on the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria in vitro.

Method: This study is an experimental laboratory research to determine the effect of the antibacterial activity of black pepper extract (*Piper nigrum L.*) extracted using the 96% ethanol maceration extraction method on the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria in vitro at various concentrations of 6.25%, 12.5% , 25%, 50%, and 100%.

Results: The results of the study showed that there was antibacterial activity of black pepper extract (*Piper nigrum L.*) with the average diameter of the inhibition zones obtained being 0.22 mm, 0.35 mm, 0.58%, 1.97 mm and 6.65 mm which were included in the weak and moderate categories.

Conclusion: There is an effect of antibacterial activity of black pepper extract (*Piper nigrum L.*) on the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria in vitro.

Keywords: Antibacterial, Black Pepper, Effect, *Shigella dysenteriae*

ABSTRAK

PENGARUH AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK LADA HITAM (*Piper nigrum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae* SECARA *IN VITRO*

Oleh

INDAH KURNIA PUTRI WARUWU

Latar Belakang: Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan disentri basiler atau shigellosis yang rentan terjadi pada anak-anak. Saat ini, mulai muncul berbagai kasus resistensi bakteri *Shigella dysenteriae* terhadap berbagai jenis antibiotik. Lada hitam (*Piper nigrum L.*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai sumber antibakteri karena lada hitam memiliki berbagai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik untuk mengetahui pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) yang diekstrak dengan metode ekstraksi maserasi etanol 96% terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi bertingkat 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) dengan rerata diameter zona hambat yang didapatkan sebesar 0,22 mm, 0,35 mm, 0,58%, 1,97 mm dan 6,65 mm yang masuk dalam kategori lemah dan sedang.

Kesimpulan: Terdapat pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.

Kata Kunci: Antibakteri, Lada Hitam, Pengaruh, *Shigella dysenteriae*

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Bagi Peneliti	6
1.4.2 Bagi Masyarakat	6
1.4.3 Bagi Peneliti Lain	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 Tinjauan Umum Tanaman Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>).....	7
2.1.1 Taksonomi.....	7
2.1.2 Morfologi	8
2.1.3 Kandungan Lada Hitam	11
2.1.4 Manfaat Lada Hitam	12
2.2 <i>Shigella dysenteriae</i>	13
2.2.1 Taksonomi.....	13
2.2.2 Morfologi	13
2.2.3 Karakteristik Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	14

2.2.4 Epidemiologi	15
2.2.5 Patogenisitas.....	16
2.2.6 Resistensi Antibiotik Pada Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	20
2.3 Antibakteri	21
2.4 Penanganan Shigellosis	24
2.5 Metode <i>Disc Diffusion</i>	26
2.6 Ekstrak dan Ekstraksi.....	26
2.6.1 Metode Ekstraksi Maserasi.....	27
2.7 Kerangka Teori.....	28
2.8 Kerangka Konsep.....	30
2.9 Hipotesis.....	30
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1 Desain Penelitian.....	31
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.2.1 Tempat Penelitian	31
3.2.2 Waktu Penelitian	31
3.3 Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian	31
3.3.1 Mikroba Uji Penelitian.....	31
3.3.2 Bahan Uji	32
3.3.3 Media Kultur	32
3.4 Identifikasi Variabel	32
3.4.1 Variabel Independen.....	32
3.4.2 Variabel Dependen	32
3.5 Definisi Operasional.....	33
3.6 Besar Sampel	34
3.6.1 Kelompok Perlakuan.....	35
3.6.2 Alur Penelitian.....	36
3.7 Prosedur Penelitian.....	37
3.7.1 Persiapan.....	37

3.7.2	Determinasi Tanaman.....	38
3.7.3	Sterilisasi Alat.....	38
3.7.4	Ekstraksi Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>)	38
3.7.5	Skrining Fitokimia.....	39
3.7.5.1	Uji Alkaloid.....	39
3.7.5.2	Uji Saponin.....	39
3.7.5.3	Uji Steroid dan Terpenoid.....	39
3.7.5.4	Uji Alkaloid.....	40
3.7.5.5	Uji Flavonoid.....	40
3.7.5.6	Uji Fenolik.....	40
3.7.6	Pengenceran Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>).....	41
3.7.7	Identifikasi Bakteri Ulang.....	42
3.7.8	Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan <i>McFarland</i>	45
3.7.9	Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri.....	45
3.7.10	Teknik Pembuatan Media Agar MHA (<i>Mueller Hinton Agar</i>) ...	45
3.7.11	Uji Aktivitas Antibakteri.....	46
3.8	Pengolahan dan Analisis Data	47
3.8.1	Pengolahan Data.....	47
3.8.2	Analisis Data	47
3.8.2.1	Analisis Univariat.....	47
3.8.2.2	Analisis Bivariat.....	48
3.9	Etika Penelitian	48
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		49
4.1	Hasil Penelitian.....	49
4.1.1	Hasil Determinasi Tanaman.....	50
4.1.2	Rendemen Ekstrak.....	50
4.1.3	Hasil Skrining Fitokimia.....	51
4.1.4	Hasil Identifikasi Ulang Bakteri.....	52
4.1.5	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	53
4.2	Hasil Analisis Data Uji Aktivitas Antibakteri.....	55

4.2.1 Analisis Data Univariat.....	55
4.2.2 Analisis Data Bivariat.....	56
4.3 Pembahasan.....	58
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	69
5.1 Kesimpulan.....	69
5.2 Saran.....	70
5.2.1 Bagi Peneliti Selanjutnya	70
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN	77

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Tatalaksana Antimikroba pada Shigellosis.....	25
Tabel 2.2 Standar Kepekaan Zona Hambat Antibiotik Ciprofloxacin	25
Tabel 3.1 Definisi Operasional	33
Tabel 3.2 Kelompok Perlakuan	35
Tabel 3.3 Klasifikasi Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri.....	47
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L</i>)	50
Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L</i>).....	51
Tabel 4.3 Hasil Uji Identifikasi Ulang Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	53
Tabel 4.4 Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L</i>) ..	54
Tabel 4.5 Hasil Analisis Univariat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>) Terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	55
Tabel 4.6 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>).....	56
Tabel 4.7 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>) Terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	57
Tabel 4.8 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>) Terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>).....	11
Gambar 2.2 Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	13
Gambar 2.3 Struktur Dinding Bakteri.....	22
Gambar 2.4 Kerangka Teori	29
Gambar 2.5 Kerangka Konsep	30
Gambar 3.1 Alur Penelitian	36
Gambar 4.1 Hasil Pewarnaan Gram Dengan Mikroskop Perbesaran 100x	52
Gambar 4.2 Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L.</i>) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Etika Penelitian

Lampiran 2. Surat Hasil Uji Determinasi Tanaman

Lampiran 3. Surat Izin Penelitian

Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia

Lampiran 5. Surat Keterangan Identitas Bakteri

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

Lampiran 7. Analisis Data Diameter Zona Hambat pada Uji Antibakteri

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi pada saluran pencernaan menjadi salah satu tantangan kesehatan global yang signifikan, terutama pada negara-negara berkembang. Salah satu penyebab utama infeksi saluran pencernaan adalah bakteri *Shigella dysenteriae*. Bakteri ini dikenal sebagai penyebab diare berdarah atau disentri, yang dapat menimbulkan komplikasi serius bahkan dapat menyebabkan kematian pada populasi yang rentan. Diare berdarah yang disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae* ini juga menjadi salah satu penyebab kematian anak-anak di berbagai belahan dunia (Dejkam & Hatam-Nahavandi, 2021; Kotloff *et al.*, 2018).

Disentri basiler atau shigellosis merupakan suatu sindrom klinis yang dapat terjadi karena adanya invasi lapisan epitel yang melapisi ileum terminal, kolon, dan rektum oleh bakteri spesies *Shigella*. Disentri yang juga dikenal sebagai diare berdarah ini, merupakan peradangan pada usus khususnya pada kolon yang dapat menyebabkan luka bahkan tukak yang terbatas pada daerah kolon dengan gejala khas dari sindrom disentri ini yaitu berupa rasa sakit pada perut yang seringkali disertai dengan tenesmus dan feses yang mengandung darah serta lendir yang berasal dari bakteri *Shigella dysenteriae*. Manifestasi lainnya dari disentri ini diantaranya adalah demam, rasa kram pada abdomen, mual, muntah bahkan dehidrasi. Manifestasi klinis yang ditimbulkan ini biasanya tergantung pada potensi virulensi *strain* bakteri serta status gizi dari individu dan juga shigellosis yang dapat berkembang menjadi penyakit yang lebih parah lagi (Chrismayanti *et al.*, 2020; Dejkam & Hatam-Nahavandi, 2021; Irawan *et al.*, 2021).

Setiap tahunnya terdapat kurang lebih 165 juta kasus infeksi bakteri *Shigella spp.* yaitu shigellosis atau disentri basiler yang menyebabkan sebanyak 1,1 juta kematian terjadi di negara berkembang dengan tingkat angka kesakitan (morbiditas) dan kematian (mortalitas) yang tinggi (99%). Dari 1,1 juta kasus kematian yang disebabkan karena shigellosis tersebut, 69% diantaranya terjadi pada anak yang berumur di bawah 5 tahun. Perkiraan ini telah diubah pada tahun 2013 menggunakan permodelan serupa dengan data risiko kematian yang telah diperbaharui. Hasilnya menunjukkan bahwa di antara 28.000 hingga 48.000 kematian per tahun terjadi pada anak di bawah 5 tahun. Pada tahun 2016, analisis molekuler kuantitatif dari Global Enteric Multicentre Study (GEMS) menemukan bahwa shigellosis adalah patogen utama yang menyebabkan diare pada anak-anak (Williams & Berkley, 2018).

Pada umumnya, penyakit infeksi seperti diare yang dilatarbelakangi oleh infeksi dari bakteri dapat ditatalaksana dengan antibiotik. Antibiotik ini sendiri merupakan salah satu obat yang biasanya digunakan untuk dapat mencegah serta mengobati infeksi yang terjadi karena infeksi bakteri. Antibiotik adalah zat kimia yang dapat membunuh atau menghentikan pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen (Pratiwi *et al.*, 2020). Sangat disayangkan karena terdapat berbagai faktor, seperti konsumsi antibiotik yang tidak didasari dengan pengetahuan yang mumpuni mengenai pemakaian antibiotik yang sesuai dengan indikasi telah mengakibatkan tingginya tingkat penggunaan antibiotik yang tidak sesuai yang memicu terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Masih banyak sekali masyarakat umum yang mengonsumsi antibiotik sembarangan setiap kali merasa sakit tanpa melakukan konsultasi terlebih dahulu dengan dokter yang menjadi salah satu hal yang mendasari resistensi bakteri terhadap antibiotik yang sudah ada (Pratiwi *et al.*, 2020).

Berdasarkan laporan tahun 2016 dari *World Health Organization* (WHO), bakteri *Shigella* menjadi salah satu dari delapan bakteri berbahaya yang resisten terhadap obat. Terdapat banyak faktor yang terlibat dalam munculnya suatu resistensi antibiotik yang dimana kejadian resistensi ini dipicu oleh

penggunaan antibiotik yang tidak bijaksana sehingga menghasilkan *strain* bakteri yang resisten. Bakteri *Shigella* memiliki kemampuan yang baik dalam bertahan hidup dan melakukan replikasi pada saluran pencernaan manusia. Dewasa ini, dilaporkan bahwa bakteri *Shigella dysenteriae* telah menjadi bakteri yang resisten terhadap antibiotik ampisilin, eritromisin, kotrimoksazol kloramfenikol, tetrasiklin, aminoglikosida, sefalosporin generasi 1 dan 2, amoxicillin, dan asam nalidixat (Hussen *et al.*, 2019; Nuzhat *et al.*, 2022).

Adapun antibiotik yang saat ini umum digunakan sebagai terapi lini pertama dari kasus shigellosis ini adalah ciprofloxacin yang merupakan antibiotik golongan *fluoroquinolone*. Berdasarkan studi literature yang dilakukan, ditemukan bahwa bakteri *Shigella spp.* mulai resisten terhadap antibiotik golongan *fluoroquinolone* karena secara intrinsik resisten melalui mekanisme mutasi dan transfer gen bakteri yang didukung dengan penggunaan antibiotik yang tidak sesuai (Puzari *et al.*, 2018). Banyaknya kasus resistensi pada infeksi bakteri *Shigella spp.* tentunya patut menjadi perhatian di bidang kesehatan dan perlu segera ditindaklanjuti dengan mencari atau menemukan antibiotik alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi kejadian infeksi bakteri *Shigella* ini (Hussen *et al.*, 2019; Nuzhat *et al.*, 2022).

Antibiotik merupakan bahan kimia yang dapat memicu resistensi mikroba terhadap antibiotik tersebut dan juga menimbulkan kerusakan organ maupun reaksi imunohipersensitivitas apabila digunakan dalam jangka waktu lama (Qomar *et al.*, 2018). Alternatif sumber antibakteri bisa kita peroleh dari berbagai tanaman yang ada di alam karena pemilihan bahan alam seperti dari tanaman sebagai alternatif bahan baku pembuatan antibiotik cukup menjanjikan karena berbagai senyawa sekunder yang terkandung di dalamnya dan lebih mudah untuk didapatkan serta cenderung mempunyai efek samping yang minimal apabila dibandingkan dengan obat konvensional dimana dalam hal ini obat yang dimaksud adalah antibiotik yang digunakan untuk mengatasi berbagai infeksi (Savitri *et al.*, 2020).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai sumber antibakteri dari bahan alam adalah tanaman lada hitam. Lada hitam (*Piper nigrum L.*) merupakan salah satu tanaman yang banyak tumbuh pada daerah dengan iklim tropis dengan kelembaban yang cukup. Kandungan senyawa dari biji lada hitam memiliki khasiat untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri bahkan membunuh bakteri. Lada hitam secara umum memiliki berbagai kandungan kimia seperti piperin, tanin, fenol, saponin, kumarin, flavonoid, glikosida, dan juga minyak atsiri (Hasriyani *et al.*, 2020; Mgbeahuruike *et al.*, 2019; Naufal *et al.*, 2022).

Lada hitam mengandung piperin, salah satu alkaloid utama yang banyak ditemukan pada lada hitam (Hikmawanti *et al.*, 2016). Menurut penelitian terdahulu, piperin memiliki sifat antibakterial yang cukup poten dimana mekanisme kerja dari piperin ini sendiri adalah dengan bekerja sebagai penghambat dari pompa efflux bakteri. Kandungan saponin buah lada hitam memiliki sifat antimikroba yang bekerja dengan mengurangi tegangan permukaan pada bakteri. Kandungan flavonoid serta alkaloid menyebabkan denaturasi protein dan merusak membran sel bakteri dengan melarutkan lemak pada dinding sel bakteri, yang menginduksi kematian sel bakteri. (Hasriyani *et al.*, 2020; Mgbeahuruike *et al.*, 2019; Naufal *et al.*, 2022).

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Hasriyani, dkk (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% dari lada hitam dengan konsentrasi mulai dari 50 mg/mL memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* yang juga merupakan bakteri gram negatif seperti *Shigella dysenteriae*. Penelitian lainnya yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari ekstrak lada hitam adalah penelitian yang dilakukan oleh Putri, dkk (2017) yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol pada konsentrasi 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Zou, dkk (2015) juga menyatakan bahwa ekstrak kloroform dari lada hitam dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Eschericia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* (Hasriyani *et al.*, 2020; Mgbeahuruike *et al.*, 2019; I. Z. Putri *et al.*, 2017; Zou *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian terdahulu

lainnya, minyak atsiri dari lada hitam (*Piper nigrum*) juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*, *Bacillus spp.* dan *Pseudomonas spp.* (Salehi *et al.*, 2019).

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan suatu kajian ataupun penelitian untuk dapat mengetahui apakah terdapat pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) dalam berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka didapatkan rumusan masalah yaitu apakah terdapat pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100% secara *in vitro*.
2. Mengetahui perbandingan pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100% secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan ilmu pengetahuan serta wawasan dari peneliti dan juga mendorong rasa ingin tahu serta minat peneliti pada mikrobiologi, terutama fitofarmaka tumbuhan yang memiliki potensi sebagai alternatif untuk pengobatan bakteri yang resisten terhadap antibiotik.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat turut bersumbangsih pada pengetahuan masyarakat mengenai pengobatan alternatif sebagai pilihan pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*.

1.4.3 Bagi Peneliti Lain

Sebagai referensi untuk para peneliti yang melakukan penelitian tambahan tentang efek ekstrak lada hitam pada bakteri lain, baik secara terpisah maupun dalam kombinasi dengan ekstrak lain.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Tanaman Lada Hitam (*Piper nigrum L.*)

Lada merupakan salah satu tanaman yang kerap kali digunakan oleh masyarakat di Indonesia sebagai bumbu untuk memasak yang berfungsi sebagai penambah cita rasa dan juga aroma dari makanan. Di Indonesia, terdapat dua jenis lada yang asalnya dari Lampung atau yang biasanya dikenal oleh masyarakat Indonesia dengan nama *Lampung Black Pepper* dan juga lada putih atau Muntok *White Pepper* dimana mayoritas produksi dari lada putih ini ada di daerah Kepulauan Bangka Belitung (Naufal *et al.*, 2022; Direktorat Jenderal Perkebunan, 2020).

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi tanaman lada hitam (*Piper nigrum L.*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper nigrum L.</i>

(Sarjani *et al.*, 2017)

2.1.2 Morfologi

Tanaman lada adalah tumbuhan yang hidupnya memanjat dan membutuhkan penyangga untuk dia dapat hidup. Dilihat dari morfologinya, tanaman lada merupakan tanaman tahunan yang hidup memanjat dengan batang beruas serta berbuku. Tingginya dapat mencapai 10 meter, dan batangnya dapat mencapai diameter tajuk 1,5 meter. Adapun bagian dari tanaman lada hitam ini meliputi akar, batang dan cabang, daun, bunga, buah, dan biji (Yudiyanto, 2015).

a. Akar

Akar yang dimiliki tanaman lada dikelompokkan menjadi dua jenis akar, yaitu akar yang berasal dari buku yang terdapat di dalam tanah yang kemudian berlanjut membentuk akar lateral dan memiliki fungsi untuk menyerap unsur hara atau zat makanan sedangkan akar yang tumbuh pada bagian atas dari tanah memiliki fungsi sebagai perekat. Akar lateral tanaman lada memiliki serabut di bagian bawah batang dan merupakan akar tunggang dengan jumlah sekitar 10-20 yang memiliki panjang berkisar 3-4 meter. Akar dari tanaman lada ini dapat menembus tanah hingga kedalaman 1-2 meter, sedangkan akar lateral yang tumbuh dari buku-buku batang yang terletak di atas tanah tidak mengalami pemanjangan, panjangnya hanya sekitar 3-5 cm dimana fungsi utama dari akar ini adalah untuk merekatkan diri pada tiang panjat (Yudiyanto, 2015).

b. Batang

Batang dari tanaman lada merupakan sulur yang panjang dengan formasi silindris yang berbuku-buku. Batang dengan usia muda akan berwarna hijau sedangkan yang tua akan berkayu dan cenderung berwarna coklat yang memiliki diameter sekitar 4-6 cm. Panjang buku dari ruas batangnya dapat mencapai 5-12 cm. Lada adalah tanaman yang bersifat *dimorphic*, dimana pada tanaman ini terdapat dua buah sulur utama yang terdiri dari sulur panjat dan sulur buah. Sulur panjat tidak dapat menghasilkan buah karena ruasnya panjang

dengan buku-buku yang membentuk akar, sementara sulur buah, atau cabang, memiliki percabangan simpodial, tidak memiliki akar yang melekat pada buku-buku, dan tumbuh mendatar (Yudiyanto, 2015).

Selain dari dua macam sulur yang telah dijelaskan di atas, tanaman lada juga memiliki sulur gantung dan sulur tanah, dimana seperti namanya sulur gantung terletak menggantung pada permukaan tajuk, sedangkan sulur tanah merupakan sulur yang tumbuhnya menjalar pada permukaan tanah. Buku ruas kedua sulur ini cenderung lebih panjang dengan diameter batang yang lebih kecil dan helaian daun yang lebih sempit dan tidak mempunyai akar lekat. Kedua sulur ini, baik sulur gantung maupun sulur tanah, berasal dari sulur panjat dimana keduanya dapat dibuang dengan cara pemangkasan sulur (Yudiyanto, 2015).

c. Daun

Daun dari tanaman lada memiliki bentuk yang bervariasi bulat telur hingga berbentuk jantung dengan bentuk asimetris yang memiliki ujung runcing, duduk daun tunggal dan pola tumbuhnya selang-seling pada setiap buku batangnya. Tangkai daunnya memiliki panjang sekitar 1,8-2,6 cm, pangkal daun tumpul serta memiliki lekukan dengan ujung yang meruncing. Ukuran lebar dari daunnya berkisar 5-10 cm dengan panjang 10-19 cm dimana tulang daunnya terdiri dari tulang daun utama dan tulang-tulang cabang yang melengkung dengan jumlah 3-4 pasang (Yudiyanto, 2015).

d. Bunga

Bunga pada tanaman lada memiliki bentuk malai dengan panjang yang berkisar 3-25 cm, tidak memiliki cabang dan memiliki poros tunggal dimana bunga tumbuh dengan ukuran kecil-kecil dengan jumlah yang lebih dari 150 buah pada setiap tandannya dengan bunga yang tumbuhnya berhadapan dengan daun yang berasal dari cabang. Bunga tanaman lada merupakan bunga majemuk yang

memiliki warna hijau kekuningan. Calon-calon bunga dari tanaman lada pada awalnya berupa mata, menjelang waktu pembungaan, mata tunas kemudian berubah menjadi kuncup bunga yang terselubung oleh seludang dari daun. Beberapa hari setelah bulir/malai bunga muncul, bunga mulai bengkok ke arah bawah dimulai dari bagian ujung yang kemudian lambat laun akan diikuti oleh bagian pangkalnya. Adapun waktu yang diperlukan bunga hingga buah matang berkisar sekitar tujuh bulan (Yudiyanto, 2015).

e. Buah

Pada umumnya buah lada memiliki bentuk bulat ataupun lonjong. Namun berdasarkan pendapat para ahli, terdapat tiga tipe buah yaitu buah yang normal dimana buah lada yang dihasilkan berwarna hijau dan apabila sudah matang akan berubah menjadi warna merah oranye, kemudian ada buah yang tidak normal dimana buah yang dihasilkan memiliki ukuran kecil dengan warna hijau tua yang akan berubah menjadi hitam, dan juga terdapat bakal buah yang tidak mengalami pertumbuhan ataupun perkembangan. Kulit buah lada memiliki ketebalan sekitar 1-2 mm, pada buah yang masih muda, biasanya didapatkan kulit yang keras sedangkan pada yang sudah matang kulitnya lunak dan berair dengan warna merah jingga dan mudah untuk terkelupas (Yudiyanto, 2015).

f. Biji

Biji tanaman lada mempunyai kulit yang berwarna putih kecoklatan dengan permukaannya yang licin dan diameter berkisar 3-4 mm. Terdapat embrio yang terletak di dekat liang biji. Biji lada memiliki kandungan minyak yang terdapat pada kulit bijinya (Yudiyanto, 2015).



Gambar 2.1 Tanaman Lada Hitam (*Piper nigrum L.*)
(Sarjani *et al.*, 2017)

2.1.3 Kandungan Lada Hitam

Lada adalah salah satu bahan rempah yang banyak digunakan sebagai bumbu untuk berbagai masakan di seluruh dunia. Terdapat banyak komponen fitokimia penting yang dapat diekstraksi dari tanaman *Piper nigrum L.* ini. Adapun berbagai komponen fitokimia tersebut diantaranya adalah seperti *flavonoids*, *propenylphenol*, *lignans*, *neolignans*, *steroid*, *terpenes*, *kawapyrones*, *chalcones*, *piperolides*, *piperamine*, *piperettine*, *piperamide*, *piperine*, *pipericide*, *piperolein*, *sarmentine*, *trichostachine*, *sarmentosine*, *tricholein*, *retrofractamide* dan berbagai kandungan fitokimia lainnya. *Terpenes*, *steroid*, *lignans*, *flavones*, dan alkaloid/alkamida telah diidentifikasi sebagai komponen utama yang ada pada lada. Di antara berbagai komponen fitokimia yang terdapat pada lada hitam, piperin merupakan amida pertama yang diisolasi dari lada yang merupakan komponen aktif utama dari lada hitam (Ashokkumar *et al.*, 2021; Mgbeahuruike *et al.*, 2019; Puspitasari & Proyogo, 2017; Srivastava & Singh, 2017; Wulandari *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa piperin merupakan agen antibakteri ampuh yang bekerja dengan menghambat pompa *efflux* dari

bakteri *Staphylococcus aureus*. Senyawa lain yang terdapat di dalam biji lada hitam seperti saponin, memiliki mekanisme kerja yang menurunkan tegangan permukaan pada bakteri. Selain itu, flavonoid dan tanin bekerja dengan cara memicu denaturasi protein dan juga merusak membran sel bakteri dengan merusak lemak dinding sel bakteri yang memicu kerusakan dinding bakteri (Ashokkumar *et al.*, 2021; Mgbeahuruike *et al.*, 2019; Puspitasari & Proyogo, 2017; Srivastava & Singh, 2017; Wulandari *et al.*, 2021).

2.1.4 Manfaat Lada Hitam

Seperti yang sudah disebutkan pada penjelasan mengenai lada sebelumnya, lada banyak sekali dimanfaatkan sebagai bumbu pada berbagai jenis masakan di seluruh dunia. Lada pun bisa dimanfaatkan menjadi bahan untuk membuat parfum maupun menjadi bahan dalam industri kosmetik dan juga farmasi. Lada juga ternyata dapat digunakan sebagai obat untuk berbagai jenis penyakit seperti batuk, sakit tenggorokan, pilek dan lain sebagainya. Secara tradisional, *Piper nigrum L.* juga sering digunakan sebagai bahan kuliner, pengawet yang bersifat alami untuk mengawetkan makanan, dan juga komponen pada penyedap masakan (Yudiyanto, 2015).

Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya, kandungan senyawa piperin yang menjadi komponen fitokimia dari lada hitam menunjukkan adanya aktivitas farmakologis seperti antihipertensi, antioksidan, antitumor, antiplatelet, antipiretik, analgesik, aktivitas anti-diare, antiinflamasi, antijamur, dan juga antibakteri. Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu yang pernah dilakukan, ekstrak lada hitam terbukti memiliki aktivitas antimikroba dari senyawa piperin yang terdapat pada lada hitam. Ekstrak lada hitam tersebut memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (Ashokkumar *et al.*, 2021; Yudiyanto, 2015).

2.2 *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae merupakan bakteri patogenik yang menjadi penyebab utama terjadinya disentri basiler atau shigellosis di dunia (Parija, 2016).

2.2.1 Taksonomi

Taksonomi bakteri *Shigella dysenteriae* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Shigella*
Spesies : *Shigella dysenteriae*
(Engelkirk, 2018)

2.2.2 Morfologi

Bakteri *Shigella* merupakan bakteri dari kelompok gram negatif. Bakteri ini berbentuk batang atau basil dengan ukuran yang berkisar sekitar 0,5 X 1–3 μm . *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri yang non-motil, tidak menghasilkan spora dan juga tidak memiliki kapsul. Terdapat beberapa serotipe dari bakteri *Shigella* yang memiliki fimbriae. *Shigella* merupakan bakteri aerob dan anaerob fakultatif yang dapat berkembang pada suhu yang berkisar 10-40 $^{\circ}\text{C}$ dengan suhu optimumnya yaitu pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ dan derajat keasaman atau pH 7,4 (Parija, 2016; Sari *et al.*, 2018).



Gambar 2.2 Bakteri *Shigella dysenteriae*
(CDC, 2018)

2.2.3 Karakteristik Bakteri *Shigella dysenteriae*

Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan salah satu subgroup dari bakteri genus *Shigella spp.* yang dibagi menjadi empat spesies yaitu *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* dan *Shigella sonnei*. Pada umumnya bakteri *Shigella boydii* dan *Shigella sonnei* menyebabkan gejala penyakit yang relatif ringan. Sementara itu, *Shigella flexneri* dan *Shigella dysenteriae* terutama bertanggungjawab untuk kejadian shigellosis yang kerap kali terjadi pada berbagai negara berkembang yang memiliki tingkat penularan dan kematian yang tinggi (Parija, 2016).

Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri yang dapat tumbuh pada berbagai media termasuk agar nutrisi, agar *MacConkey*, agar selektif (pada *Deoxycholate Citrate Agar (DCA)*, *Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar*, *Hektoen Enteric (HE) Agar* dan *Salmonella-Shigella Agar (SSA)* yang seringkali digunakan sebagai media selektif untuk isolasi dari spesies *Shigella*) serta pada media cair seperti kaldu selenite F. Pada agar nutrisi (*nutrient agar*), koloni dari bakteri *Shigella* yang terbentuk setelah inkubasi selama satu malam akan terlihat melingkar, kecil, kembang, halus dan tembus cahaya. Pada agar *MacConkey*, bakteri *Shigella dysenteriae* memperlihatkan koloni yang nampak pucat, tidak berwarna yang tidak memfermentasikan laktosa. DCA merupakan media agar selektif yang berguna untuk mengisolasi bakteri *Shigella spp.* dari feses. Pada DCA, bakteri *Shigella spp.* menghasilkan koloni yang kecil dimana pada inkubasi dengan waktu yang lama akan menunjukkan koloni bakteri dengan warna merah muda yang memfermentasikan laktosa. Pada agar SSA (*Salmonella-Shigella*), bakteri *Shigella spp.* membentuk koloni yang tak berwarna. Pada agar *Hektoen Enteric (HE)*, bakteri ini akan membentuk koloni berwarna hijau (Parija, 2016).

Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri yang tidak memfermentasikan mannitol. Bakteri *Shigella* dapat melakukan fermentasikan glukosa dan menghasilkan asam tanpa gas. Selain itu, *Shigella dysenteriae* juga tidak memfermentasikan laktosa, sukrosa, salicin, adonitol atau inositol. Bakteri ini mereduksi nitrat menjadi nitrit tetapi tidak membentuk H₂S. Pada uji sitrat dan oksidase didapatkan hasil yang negatif sedangkan pada uji *Methyl Red (MR)* didapatkan hasil positif. Uji katalase pada bakteri *Shigella* menunjukkan hasil yang positif kecuali pada bakteri *Shigella dysenteriae* tipe 1. *Shigella spp.* dapat dibunuh pada suhu 55°C dalam waktu 1 jam atau dengan menggunakan 1% fenol dalam waktu 30 menit. Dalam feses, *Shigella spp.* akan mati dalam beberapa jam karena keasaman yang diproduksi oleh bakteri dari usus. *Shigella spp.* dapat hidup pada lingkungan yang lembab selama sehari-hari, tetapi dapat mati dengan cepat karena proses pengeringan. *S. sonnei* umumnya lebih tahan pada kondisi yang kurang mendukung daripada spesies bakteri *Shigella* lainnya (Parija, 2016).

2.2.4 Epidemiologi

Shigellosis atau disentri basiler merupakan sebuah penyakit diare bakteri yang dilatarbelakangi oleh infeksi bakteri spesies *Shigella*. Penyakit ini kerap kali terjadi pada negara berkembang dimana penularannya dapat terjadi melalui konsumsi makanan yang sudah terkontaminasi, sanitasi yang buruk atau melalui kontak langsung dari orang ke orang. Shigellosis dapat terjadi pada seluruh kelompok usia namun terdapat kelompok yang memiliki resiko tinggi yang dapat menderita infeksi ini di antaranya adalah pada anak-anak masih kecil, kaum lansia, dan juga pada individu dengan pertahanan tubuh yang kurang mumpuni (*immunocompromised*) (Kotloff *et al.*, 2018; Rogawski Mcquade *et al.*, 2020).

Insidensi shigellosis dilaporkan mencapai angka 188 juta kasus dengan sekitar 1 juta kasus kematian setiap tahunnya di seluruh dunia. *Shigella* menjadi penyebab paling umum terjadinya diare pada anak dengan usia di bawah 5 tahun di Afrika dan juga Asia Selatan. Tidak ada dominasi dari jenis kelamin dan ras pada kejadian shigellosis ini (Kotloff *et al.*, 2018).

2.2.5 Patogenesis

Berdasarkan karakteristik kombinasi dari aspek biokimia dan serologis, *Shigella* dapat diklasifikasikan menjadi empat spesies atau sub-kelompok, yang terdiri dari lebih dari 45 kelompok yang berbasis antigen O dimana setiap spesiesnya terdiri dari serotipe yang berbeda. Spesies *Shigella dysenteriae* dibagi menjadi 12 serotipe dimana setiap serotipenya ditandai dengan adanya jenis antigen yang berbeda. *S. dysenteriae* tipe 1 merupakan basil bakteri yang awalnya dijelaskan sebagai basil shiga. Serotipe 3-7 dikenal sebagai kelompok besar *Sachs*. Spesies *Shigella flexneri* merupakan kelompok bakteri *Shigella* yang dinamakan dari nama orang yang pertama kali mendeskripsikan bakteri *Shigella* pertama yang memfermentasikan mannitol yang berasal dari Filipina yaitu Flexner (1900). *S. flexneri* ini dibagi menjadi 6 serotipe. Spesies *Shigella boydii* juga mendapatkan nama dari Boyd yang merupakan orang yang pertama kali mendeskripsikan *strain* bakteri ini dari India (1931). *S. boydii* dibagi kedalam 6 serotipe. Spesies *Shigella sonnei* dinamakan dari nama *Sonne* yang merupakan orang yang pertama kali mendeskripsikan *strain* bakteri ini dari Denmark (1915) (Parija, 2016; Tortora *et al.*, 2019).

Bakteri *Shigella spp.* dapat memicu penyakit yang serius yang dikenal sebagai disentri basiler. Infeksi dari bakteri ini dapat terjadi ketika kita mengonsumsi makanan yang telah tercemar oleh bakteri ini. Dosis infektivitas (ID) bakteri ini sangatlah rendah. Bakteri *Shigella dysenteriae* dapat menyebabkan gejala klinis hanya dengan 10 buah basil bakteri *Shigella dysenteriae*. Pada spesies *S. sonnei* atau *S. flexneri*

dibutuhkan sekitar 100-200 buah basil bakteri untuk menyebabkan gejala klinis penyakit. Dari perbandingan tersebut dapat kita lihat bahwa bakteri *Shigella dysenteriae* dapat menginfeksi dan menyebabkan gejala klinis pada tubuh kita hanya dengan jumlah yang sedikit (Parija, 2016).

Shigella spp. menyebabkan penyakit dengan cara melakukan invasi dan juga bereplikasi pada mukosa intestinal kolon. Protein struktural seperti faktor adhesi usus, endotoksin, dan eksotoksin menjadi mediator bakteri untuk dapat melekatkan diri dengan sel pejamu serta berfungsi dalam invasi bakteri, replikasi intraseluler, dan penyebaran pada sel pejamu. Bakteri kemudian akan menginfeksi sel epitel vili pada kolon kemudian bereplikasi pada kolon. Selanjutnya, bakteri akan menyebar secara lateral hingga menembus ke lapisan lamina propria. Bakteri *Shigella spp.* melisiskan vakuola fagositik dan berkembang biak pada sitoplasma sel pejamu. Bakteri *Shigella* bertahan dari mekanisme fagositosis tubuh pejamu dengan menginduksi kematian terprogram sel atau apoptosis. Mekanisme ini mengarah pada pelepasan IL-1 yang akan memicu datangnya leukosit PMN ke dalam jaringan yang terinfeksi. Hal ini akan mengubah kesatuan dinding dari intestinal dan memungkinkan bakteri untuk mencapai sel epitel pada lapisan yang lebih dalam lagi (Parija, 2016).

Toksin shiga yang dihasilkan oleh bakteri juga memainkan peran penting dalam perkembangan lesi tukak pada mukosa intestinal sel pejamu setelah melakukan invasi ke sel kolon. Toksin shiga yang dihasilkan juga menginduksi kerusakan vaskular pada mukosa kolon. Edema pada mukosa, eritema, kerapuhan, ulserasi superfisial, dan perdarahan mukosa fokal pada persimpangan rektosigmoid merupakan gambaran patologis yang khas yang dapat diamati pada infeksi bakteri *Shigella spp.* (Parija, 2016).

Virulensi pada bakteri *Shigella spp.* melibatkan kromosom dan gen berkode plasmid yang mengekspresikan banyak faktor virulensi. Adapun faktor-faktor virulensi dari bakteri *Shigella spp.* adalah sebagai berikut:

1) Endotoksin

Bagian lipopolisakarida (LPS) yang dimiliki oleh bakteri *Shigella spp.* memiliki peranan sebagai endotoksin dan merupakan sebuah komponen penting dari virulensi bakteri. Endotoksin berperan dalam resistensi *Shigella* terhadap mekanisme pertahanan tubuh nonspesifik yang dimiliki oleh pejamu atau tuan rumah selama invasi jaringan. Toksin atau racun yang dimiliki oleh *Shigella spp.* membantu bakteri dalam melakukan invasi, melakukan multiplikasi, dan juga resistensi *Shigella* terhadap fagositosis yang dilakukan oleh makrofag jaringan. Endotoksin meningkatkan aktivitas sitotoksik shiga pada sel endotel pembuluh darah manusia. Endotoksin diekspresikan oleh gen kromosom dari bakteri *Shigella spp.* (Parija, 2016).

2) Faktor penempelan intestinal

Faktor penempelan bakteri pada jaringan intestinal atau usus adalah protein membran luar yang dikodekan oleh setiap gen yang ada pada kromosom. Ini memediasi kolonisasi bakteri *Shigella spp.* di dalam inang manusia yang terinfeksi oleh bakteri ini (Parija, 2016).

3) Toksin/Racun Shiga

Toksin atau racun shiga merupakan eksotoksin yang diproduksi oleh bakteri *Shigella dysenteriae*. Toksin ini merupakan protein yang labil terhadap suhu panas dan bertindak sebagai enterotoksin dan neurotoksin. Toksin shiga (Stx) merupakan kelompok sitotoksin yang mengandung dua kelompok imunologi utama non-reaktif silang yang disebut Stx 1 dan Stx 2. Kedua toksin shiga ini, baik Stx 1 maupun Stx 2 dikodekan oleh bakteriofag yang dimasukkan ke dalam kromosom dari bakteri. Toksin shiga memiliki satu buah subunit A dan lima buah subunit B. Fungsi

utama dari subunit B adalah mengikat racun atau toksin pada reseptor permukaan sel glikolipid yang dimiliki oleh pejamu atau inang yang berada pada batas sel dari usus. Subunit B juga berperan untuk memediasi transfer subunit A ke dalam sel sedangkan subunit A berfungsi untuk mencegah pengikatan *aminoacyl-transfer RNA* dan mengganggu sintesis protein (Parija, 2016).

Toksin shiga menunjukkan tiga tipe aktivitas toksik:

1. Aktivitas Neurotoksik

Aktivitas ini dapat dibuktikan dengan terjadinya kelumpuhan dan kematian pada hewan coba berikut injeksi dengan toksin. Meskipun disebut neurotoksin, situs utama yang diserang bukanlah bagian saraf melainkan pembuluh darah, manifestasi neurologis merupakan manifestasi klinik yang sifatnya sekunder (Parija, 2016).

2. Aktivitas Enterotoksik

Toksin ini bersifat enterotoksik pada intestinal kelinci percobaan yang diuji (Parija, 2016).

3. Aktivitas Sitotoksik

Hal ini ditunjukkan oleh sitotoksisitas toksin terhadap beberapa sel endotel terpilih seperti sel endotel vaskular pada ginjal manusia (Parija, 2016).

Manifestasi utama dari toksin shiga adalah kerusakan yang terjadi pada epitel usus dari pejamu yang terinfeksi menyebabkan diare dan disentri. Namun, pada sejumlah kecil pasien, toksin shiga dapat memediasi kerusakan pada sel endotel glomerulus, mengakibatkan sindrom urin hemolitik (Parija, 2016).

2.2.6 Resistensi Antibiotik Pada Bakteri *Shigella dysenteriae*

Dewasa ini, berbagai bakteri penyebab penyakit enterik termasuk bakteri *Shigella spp.* secara bertahap menjadi lebih resisten terhadap berbagai antibiotik utama yang diperlukan dalam pengobatan infeksi bakteri. Semakin meningkatnya tingkat resistensi antimikroba dari bakteri *Shigella spp.* telah mempersulit pengobatan shigellosis. Resistensi antibiotik dalam penanganan infeksi bakteri patogen menyebabkan beragam konsekuensi yang beragam tergantung dari jenis bakteri patogen yang menginfeksi. Pada shigellosis, antibiotik merupakan pengobatan utama. Pasien yang diobati dengan antibiotik yang tidak efektif mungkin mengalami lebih banyak komplikasi dibandingkan dengan pasien yang tidak diobati, karena antibiotik yang tidak efektif tersebut kemungkinan besar akan mempengaruhi flora normal usus sehingga justru akan mendukung pertumbuhan bakteri *Shigella spp.* yang resisten (Prabhurajeshwar & Chandrakanth Kelmani, 2018).

Antibiotik yang mulanya ditujukan untuk menatalaksana infeksi dari bakteri *Shigella spp.* adalah antibiotik golongan sulfonamide yang kemudian diikuti dengan tetrasiklin dan kloramfenikol. *Shigella* kemudian mengembangkan mekanisme resistensi terhadap semua antibiotik tersebut sehingga pengobatan dialihkan dengan menggunakan ampicilin dan kotrimoksazol. Sangat disayangkan karena terjadi pula resistensi dengan kedua antibiotik tersebut sehingga penatalaksanaannya diubah kembali menjadi asam nalidixat. Kemudian terjadi lagi resistensi terhadap asam nalidixat yang kemudian segera setelah itu antibiotik golongan *fluoroquinolone* seperti ciprofloxacin direkomendasikan sebagai tatalaksana infeksi bakteri *Shigella dysenteriae*. Ciprofloxacin dapat memerangi kejadian infeksi bakteri *Shigella spp.* hanya saja, beberapa waktu ini telah ditemukan kejadian bakteri *Shigella spp.* yang mulai resisten terhadap antibiotik dari

golongan *fluoroquinolone* (Nuzhat *et al.*, 2022; Prabhurajeshwar & Chandrakanth Kelmani, 2018; Puzari *et al.*, 2018).

2.3 Antibakteri

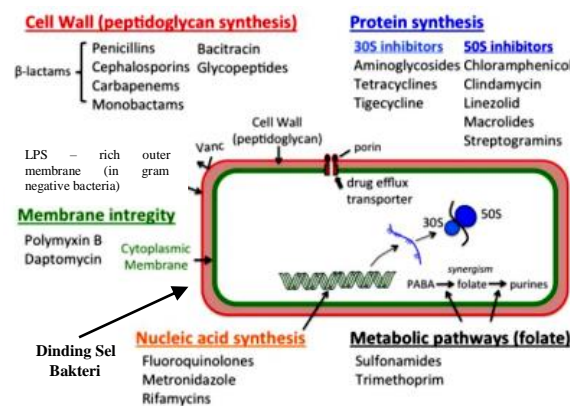
Antibakteri adalah zat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan juga dapat memusnahkan bakteri yang memiliki sifat patogen. Antibakteri dapat digolongkan ke dalam dua kelompok berdasarkan cara kerjanya yaitu bakteristatik merupakan cara kerja antibakteri dengan menghambat pertumbuhan dari bakteri yang sifatnya patogen sedangkan bakterisidal merupakan cara kerja antibakteri dengan membunuh bakteri. Pada dasarnya mekanisme penghambatan yang dilakukan oleh agen bakteristatik melibatkan suatu penghambatan dari sintesis protein dan juga beberapa jalur metabolisme dari bakteri yang menjadi target. Terkadang sulit untuk menentukan batas yang jelas antara antibakteri dengan sifat bakteristatik maupun bakterisidal, terutama apabila agen bakteristatik digunakan pada konsentrasi atau jumlah yang tinggi dimana agen bakteristatik tersebut dapat bekerja sebagai bakterisidal (Magani *et al.*, 2020).

Antibiotik merupakan obat yang termasuk dalam kategori antimikroba yang digunakan untuk menatalaksana infeksi bakteri. Antibiotik merupakan antibakteri yang dapat dibagi ke dalam tiga kelompok besar yang didasarkan berdasarkan target kerjanya terhadap bakteri yaitu: (1) antibiotik yang bekerja dengan menargetkan dinding sel yang dimiliki oleh bakteri, (2) antibiotik yang memiliki mekanisme kerja dengan mencegah produksi protein baru oleh bakteri dan (3) antibiotik yang bekerja dengan menargetkan DNA atau replikasi dari DNA bakteri. Adapun penjelasannya adalah sebagai berikut (Anggita *et al.*, 2022):

a. Antibiotik yang bekerja pada dinding sel bakteri

Struktur dinding sel yang dimiliki oleh bakteri terdiri dari peptidoglikan, dimana peptidoglikan ini tersusun oleh polimer pengulangan dari dua gula: *N-asetilmuramin* dan *N-asetilglukosamin* juga. Adapun antibiotik yang

dapat bekerja dengan mengganggu dinding sel bakteri yaitu: golongan beta laktam, glikopeptida, daptomisin, dan colistin. Antibiotik beta laktam ini dapat mencegah terjadinya sintesis dari peptidoglikan baru yang kemudian akan memicu terjadinya lisis dari sel bakteri karena adanya gangguan dari lapisan dinding selnya (Anggita *et al.*, 2022). Antibiotik golongan beta laktam diantaranya adalah penisilin, sefalosporin, karbapenem, dan monobaktam. Antibiotik golongan glikopeptida membunuh bakteri dengan mencegah terjadinya sintesis dari dinding sel yang dimiliki oleh bakteri. Antibiotik golongan glikopeptida diantaranya adalah vancomisin dan telavancin. Lipopeptida (daptomisin) bekerja dengan cara melakukan ikatan dengan membran sitoplasma bakteri dengan bergantung pada kalsium dan mengganggu membran sel bakteri sehingga terjadi pembentukan saluran dimana melalui saluran yang terbentuk ini akan memungkinkan ion untuk keluar dari intraseluler yang kemudian memicu kematian sel bakteri yang terjadi dengan cepat. Pada antibiotik colistin, cara kerja yang dilakukan adalah dengan memberikan gangguan pada molekul lipopolisakarida yang biasanya padat yang kemudian akan memicu terjadinya peningkatan permeabilitas dari sel dan akhirnya akan menyebabkan sel dari bakteri pecah atau lisis (Anggita *et al.*, 2022).



Gambar 2.3 Struktur Dinding Bakteri
(Anggita *et al.*, 2022)

b. Antibiotik dengan target kerja menghambat sintesis protein

Protein merupakan sumber energi bagi bakteri untuk dapat berkembang karena protein merupakan komponen penting untuk pertumbuhan dan juga

multiplikasi dari bakteri. Adapun golongan antibiotik yang memiliki mekanisme kerja untuk memblokir sintesis protein bakteri diantaranya adalah aminoglikosida, makrolida, tetrasiklin dan glisilsiklin, kloramfenikol serta lincosamid (klindamisin). Antibiotik golongan aminoglikosida memiliki mekanisme kerja dengan menyebabkan kesalahan translasi protein, yang termasuk dalam antibiotik golongan aminoglikosida adalah streptomisin, neomisin, kanamisin, gentamisin, dan lain-lainnya. Golongan makrolida memiliki mekanisme kerja yang kurang lebih menyerupai antibiotik golongan aminoglikosida karena sama-sama menargetkan ribosom dan juga mencegah terjadinya produksi protein (Anggita *et al.*, 2022).

Golongan tetrasiklin dan glisilsiklin bekerja dengan cara berinteraksi dengan ribosom sehingga menghambat terjadinya pengikatan oleh molekul tRNA yang dimuat oleh asam amino yang kemudian akan menyebabkan terhambatnya proses dari sintesis bakteri, sedangkan pada kloramfenikol, struktur kloramfenikol memungkinkan terjadinya ikatan dengan subunit dari ribosom dan kemudian memblokir pengikatan asam amino oleh tRNA. Pada klindamisin, antibiotik ini akan melakukan pengikatan dengan subunit ribosom bakteri dan memblokir sintesis protein (Anggita *et al.*, 2022).

c. Antibiotik yang menargetkan DNA

Bakteri tentunya perlu untuk melakukan kembangbiak sebagai salah satu upaya untuk dapat melawan pertahanan dari tubuh pejamu dimana faktor imunitas yang dimiliki oleh pejamu pastinya akan terus berusaha untuk melawan bakteri yang sifatnya patogen. Replikasi bakteri ini tentunya akan memicu terjadinya berbagai sintesis biomolekul yang akan diperlukan untuk membangun sel anakan dari bakteri. Adapun antibiotik yang menargetkan DNA pada bakteri diantaranya adalah rifampisin, trimetoprim-sulfamethoxazole, quinolon, dan metronidazol. Rifampisin bekerja dengan memblokir perpanjangan molekul mRNA yang baru

dibentuk. Trimetropim-sulfamethoxazole yang merupakan kombinasi dari dua agen antimikroba berupa trimetoprim dan sulfametoksazole, bekerja dengan mencegah terjadinya sintesis *tetrahydrofolate* (THF) yang merupakan bentuk aktif dari asam folat yang merupakan senyawa yang berperan penting dalam replikasi bakteri. Quinolon bekerja dengan cara melakukan ikatan dengan kompleks enzim DNA yang tidak hanya menargetkan enzim saja yang menyebabkan terhambatnya proses replikasi bakteri dan juga memicu kematian dari sel bakteri. Sedangkan pada metronidazol, mekanisme kerja yang dilakukan adalah dengan menciptakan senyawa radikal bebas yang kemudian akan menginduksi terjadinya kerusakan pada molekul dari DNA bakteri yang selanjutnya akan berakhir dengan kematian dari bakteri (Anggita *et al.*, 2022).

2.4 Penanganan Shigellosis

Penggunaan antibiotik dalam mengatasi infeksi yang dipicu oleh infeksi bakteri tentunya memegang peranan yang penting dalam mengurangi prevalensi dan kematian yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Shigellosis disebabkan oleh bakteri *Shigella spp.* yang tentunya juga memerlukan peranan antibiotik dalam mencegah berbagai komplikasi shigellosis yang dapat terjadi, mempersingkat durasi gejala yang ditimbulkan dan juga mempercepat pengurangan jumlah bakteri *Shigella* dari feses (Ranjbar & Farahani, 2019; Williams & Berkley, 2018).

Menurut pedoman WHO saat ini dan tinjauan sistematis yang telah dilakukan, antibiotik yang direkomendasikan dalam penanganan shigellosis adalah fluoroquinolone (sebaiknya ciprofloxacin), sefalosporin (lini kedua), dan beta laktam (lini kedua) yang diberikan selama 7-10 hari. Pada daerah yang diketahui memiliki tingkat resistensi yang tinggi terhadap ciprofloxacin, azitromisin merupakan terapi lini kedua yang tepat dalam mengobati shigellosis. Cefixime juga dapat menjadi antibiotik alternatif yang baik meskipun penggunaannya harus seimbang sehubungan dengan risiko perkembangan resistensi antimikroba (Ranjbar & Farahani, 2019).

Tabel 2.1 Tatalaksana Antimikroba pada Shigellosis

Antimikroba	Dosis	
	Anak-anak	Dewasa
First-line		
Ciprofloxacin	15 mg/kg, 2x sehari, selama 3 hari, PO	500 mg, 2x sehari, selama 3 hari, PO
Second-line		
Pivmecillinam	20 mg/kg, 4x sehari, selama 5 hari, PO	100 mg, 4x sehari, selama 5 hari, PO
Ceftriaxone	50-100 mg/kg, 1x sehari, selama 2-5 hari, IM	-
Azitromisin	6-20 mg/kg, 1x sehari, selama 1-5 hari, PO	1-1,5 g, 1x sehari, selama 1-5 hari, PO

(Williams & Berkley, 2018)

Ciprofloxacin menjadi terapi lini pertama yang dapat digunakan pada kasus infeksi shigellosis. Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan fluoroquinolone generasi kedua yang dengan spektrum luas yang dapat digunakan baik pada bakteri gram positif maupun pada bakteri gram negatif. Ciprofloxacin digunakan pada pengobatan berbagai macam infeksi bakteri termasuk pada infeksi saluran kemih. Antibiotik golongan quinolone seperti ciprofloxacin memberikan efek antibakteri yang kuat dengan cara mengikatkan diri pada enzim bakteri, DNA gyrase dan topoisomerase IV yang dimana pengikatan ini kemudian akan menghasilkan pembentukan kompleks quinolone-enzim-DNA dan memicu enzim untuk memecah DNA dan obat tersebut mencegah terhubungannya kembali DNA yang rusak yang kemudian akan mencegah replikasi DNA. Pada akhirnya mekanisme ini akan menghasilkan suatu kerusakan DNA bakteri yang kemudian diikuti dengan kematian sel dari bakteri (Sharma *et al.*, 2017). Berikut merupakan standar zona hambat antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri famili *Enterobacteriaceae* menurut CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*) (CLSI, 2020) :

Tabel 2.2 Standar Kepekaan Zona Hambat Antibiotik Ciprofloxacin

Jenis Antibiotik	Konsentrasi Cakram Antibiotik	Diameter Zona Hambat (mm)		
		Sensitif	Intermediate	Resisten
Ciprofloxacin	5µg	≥26	22-25	≤21

(CLSI, 2020)

2.5 Metode *Disc Diffusion*

Metode uji difusi cakram atau *disc diffusion* (DD) menjadi salah satu metode uji aktivitas antibakteri yang sangat lazim digunakan pada laboratorium mikrobiologi klinis. Adapun metode uji cakram ini telah distandarisasi untuk menguji kerentanan bakteri kerap kali memicu penyakit pada manusia. Metode uji cakram ini didasarkan dengan menempatkan cakram berbeda yang telah mengandung antibiotik pada media agar yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan suspensi bakteri yang akan menjadi target (Gajic *et al.*, 2022).

Antibiotik kemudian akan berdifusi secara radial ke luar melalui media agar yang kemudian akan menghasilkan gradien konsentrasi antibiotik. Setelah zona hambat terbentuk dalam waktu 24 jam dan inkubasi pada suhu kurang lebih 35°C, diameter zona hambat kemudian diukur dengan menggunakan mata telanjang atau menggunakan sistem otomatis. Hasil yang diperoleh kemudian dikategorikan berdasarkan standar klinis yang sudah ditentukan. Metode difusi cakram adalah metode yang paling lazim digunakan karena biaya yang murah dan mudah untuk dilakukan pada berbagai spesies bakteri dan senyawa antibiotik yang diujikan (Gajic *et al.*, 2022).

2.6 Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak merupakan suatu sediaan kental yang dibuat dengan mengambil bahan aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang tepat. Semua atau hampir semua pelarut yang digunakan diuapkan, kemudian massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Wiranata & Sasadara, 2022).

Ekstraksi sendiri merupakan suatu metode yang dilakukan untuk memisahkan suatu zat yang dilakukan berdasarkan prinsip perbedaan kelarutan antara dua cairan yang tidak saling larut, satunya biasanya digunakan air serta berbagai pelarut lainnya yang bersifat organik. Adapun pelarut yang dipakai dalam proses ekstraksi harus merupakan senyawa kandungan aktif yang dapat

terpisahkan dari bahan serta senyawa kandungan lain sehingga ekstrak benar-benar hanya memiliki senyawa yang diinginkan. Pada dasarnya, pelarut yang digunakan harus memenuhi standar kefarmasian. Pelarut yang diizinkan untuk digunakan diantaranya adalah air dan alkohol (etanol) beserta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol, heksana, toluene, kloroform serta aseton yang umumnya dipakai sebagai pelarut pada tahap pemisahan dan tahap pemurnian (fraksinasi). Pelarut metanol dianjurkan untuk dihindari pemakaiannya karena memiliki sifat yang toksik (Arsa & Achmad, 2020).

Terdapat sejumlah faktor yang dapat mempengaruhi mutu dari ekstrak diantaranya adalah sebagai berikut (Warnis *et al.*, 2021):

1. Faktor biologi

Kualitas ekstrak tentunya akan ditentukan dari bahan asal yaitu tumbuhan obatnya dan khusus dipandang dari berbagai aspek segi biologi yaitu dari jenis spesies tumbuhannya, tempat asal diperoleh, waktu panen hasil tumbuhan, penyimpanan bahan tumbuhan, dan usia tumbuhan serta bagian tumbuhan yang digunakan untuk memperoleh ekstrak.

2. Faktor kimia

Kualitas ekstrak tentunya ditentukan juga oleh tumbuhan obatnya dari segi kandungan kimia yang dimilikinya meliputi beberapa hal seperti faktor internal seperti jenis senyawa aktif tanaman, komposisi kualitatif dan kuantitatif dari senyawa aktif yang terkandung, serta kadar total rerata senyawa aktif. Faktor eksternal seperti metode ekstraksi yang digunakan, perbandingan ukuran alat ekstraksi (diameter dan tinggi alat), ukuran, kekerasan dan kekeringan bahan.

2.6.1 Metode Ekstraksi Maserasi

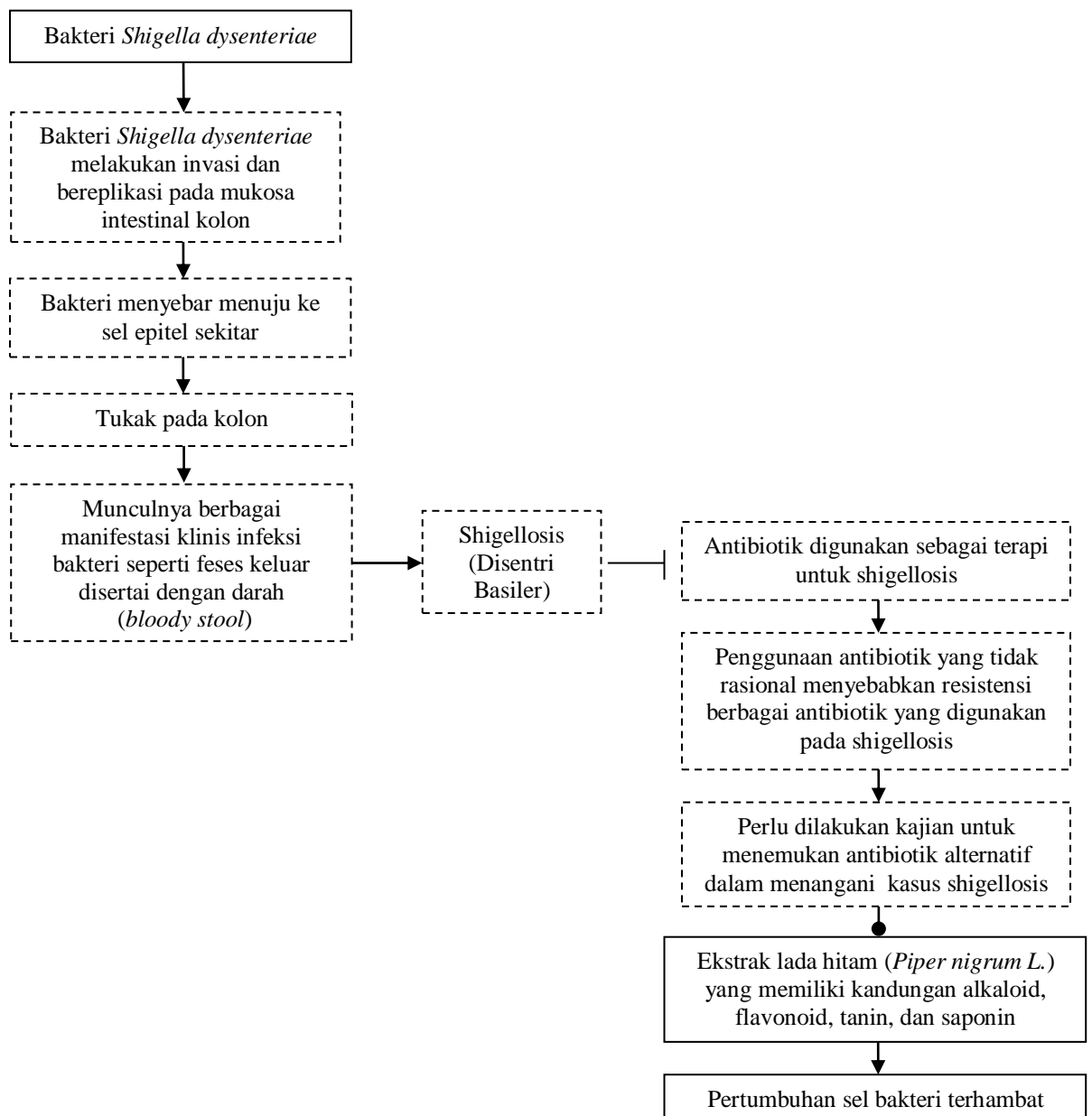
Maserasi adalah salah satu teknik ekstraksi dengan suhu dingin (tanpa adanya proses pemanasan) dari beberapa metode ekstraksi lainnya. Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang paling umum dilakukan. Adapun cara untuk melakukan ekstraksi dengan teknik maserasi adalah dengan memasukkan pelarut dan serbuk tanaman ke

dalam wadah inert yang ditutup rapat dan disimpan pada suhu kamar. Kelemahan metode maserasi ini adalah waktu yang cukup lama, penggunaan pelarut dalam jumlah yang cukup besar, dan kemungkinan hilangnya sejumlah senyawa, namun di sisi lain, metode maserasi memiliki beberapa kelebihan yaitu metode dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak melalui proses pemanasan untuk mencegah terurainya bahan alam (Badaring *et al.*, 2020; Puspitasari & Proyogo, 2017; Zhang *et al.*, 2018).

2.7 Kerangka Teori

Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri patogen yang menjadi penyebab utama terjadinya disentri basiler atau shigellosis di dunia. Shigellosis atau disentri basiler dapat terjadi melalui konsumsi makanan yang sudah terkontaminasi yang kemudian melakukan invasi dan bereplikasi pada mukosa intestinal kolon. Toksin shiga yang dihasilkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae* kemudian akan menyebabkan lesi tukak pada mukosa intestinal sel pejamu yang kemudian menimbulkan berbagai gejala seperti feses yang keluar disertai dengan darah (*bloody stool*) (Parija, 2016).

Antibiotik yang digunakan untuk mengobati infeksi bakteri *Shigella dysenteriae* mulai mengalami resistensi karena faktor intrinsik dari bakteri tersebut dan didukung pula dengan penggunaan antibiotik yang tidak rasional. Hal ini tentu perlu segera dicari tatalaksana alternatifnya dalam menangani kasus shigellosis. Dalam hal ini, lada hitam adalah salah satu tanaman rempah yang buahnya seringkali dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam berbagai jenis masakan di seluruh dunia. Lada hitam (*Piper nigrum L.*) memiliki banyak sekali komponen fitokimia penting seperti piperin, saponin, flavonoid, dan alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Ashokkumar *et al.*, 2021; Mgbeahuruike *et al.*, 2019; Puzari *et al.*, 2018; Srivastava & Singh, 2017).

**Keterangan:**

- : diteliti
 : tidak diteliti
 : ditatalaksana dengan
 : menyebabkan
● : dilakukan uji antibakteri alternatif

Gambar 2.4 Kerangka Teori

(Hussen *et al.*, 2019; Mgbeahuruike *et al.*, 2019; Parija, 2016; Puzari *et al.*, 2018; Srivastava & Singh, 2017)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini digunakan desain penelitian yang bersifat eksperimental laboratorik untuk menguji pengaruh aktivitas antibakteri dari ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang kemudian akan dibandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol. Metode uji aktivitas antibakteri yang dipakai pada penelitian ini adalah *Kirby-Bauer Disc Diffusion*, yaitu dengan menggunakan kertas cakram yang sudah mengandung ekstrak lada hitam maupun variabel kontrol pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Botani, Laboratorium Kimia Organik, dan Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2024.

3.3 Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian

3.3.1 Mikroba Uji Penelitian

Digunakan satu jenis mikroba uji yaitu bakteri *Shigella dysenteriae* yang merupakan bakteri gram negatif. Bakteri ini diperoleh dari

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan dikultur dalam agar SSA (*Salmonella-Shigella Agar*).

3.3.2 Bahan Uji

Penelitian ini menggunakan lada hitam (*Piper nigrum L.*) yang diekstrak dengan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.3.3 Media Kultur

Pada penelitian ini digunakan media *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) sebagai media kultur dan identifikasi bakteri. Setelah dilakukan kultur, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) digunakan sebagai media uji pengaruh aktivitas antibakteri dari ekstrak lada hitam.

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Independen

Variabel independen pada penelitian ini adalah ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) dalam berbagai tingkat konsentrasi yaitu pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100%.

3.4.2 Variabel Dependen

Variabel dependen pada penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang dipengaruhi oleh variabel independen atau ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) dengan berbagai konsentrasi yang telah ditentukan.

3.5 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak lada hitam (<i>Piper nigrum L.</i>) 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%, K(+) Ciprofloxacin 5µg, K(-) Aquades	Suatu zat yang diperoleh dari ekstraksi buah lada hitam (<i>Piper nigrum L.</i>). Metode ekstrak yang digunakan adalah metode maserasi yang dilakukan dengan mengeringkan lada hitam kemudian dihaluskan dengan blender dan direndam dalam larutan etanol 96% sebagai pelarut. (Hasriyani <i>et al.</i> , 2020; Sari <i>et al.</i> , 2014)	Menggunakan persamaan: $N1 \times V1 = N2 \times V2$ 2 Keterangan: N1=konsentrasi awal V1=volume awal N2=konsentrasi akhir V2=volume akhir.		Ekstrak buah lada hitam dengan berbagai konsentrasi bertingkat yang telah ditentukan (6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100%).	Ordinal
Zona hambat pertumbuhan bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	Diameter zona hambat yang terbentuk setelah variabel independen dan kontrol positif serta negatif diberikan dengan menggunakan metode difusi cakram (<i>kirby bauer</i>). (Hasriyani <i>et al.</i> , 2020)	Mengukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong.	Jangka sorong.	Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam milimeter (mm)	Numerik

3.6 Besar Sampel

Pada penelitian ini, berbagai konsentrasi ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) diuji pengaruhnya terhadap bakteri uji, yaitu pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100% serta dengan ciprofloxacin sebagai kontrol positif, dan aquades sebagai kontrol negatif yang diberikan untuk mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Untuk menentukan banyaknya pengulangan masing-masing perlakuan pada penelitian ini digunakan rumus Federer:

$$(n-1)(k-1) \geq 15$$

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

$$(n-1)6 \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan:

n = banyaknya pengulangan

k = jumlah kelompok perlakuan

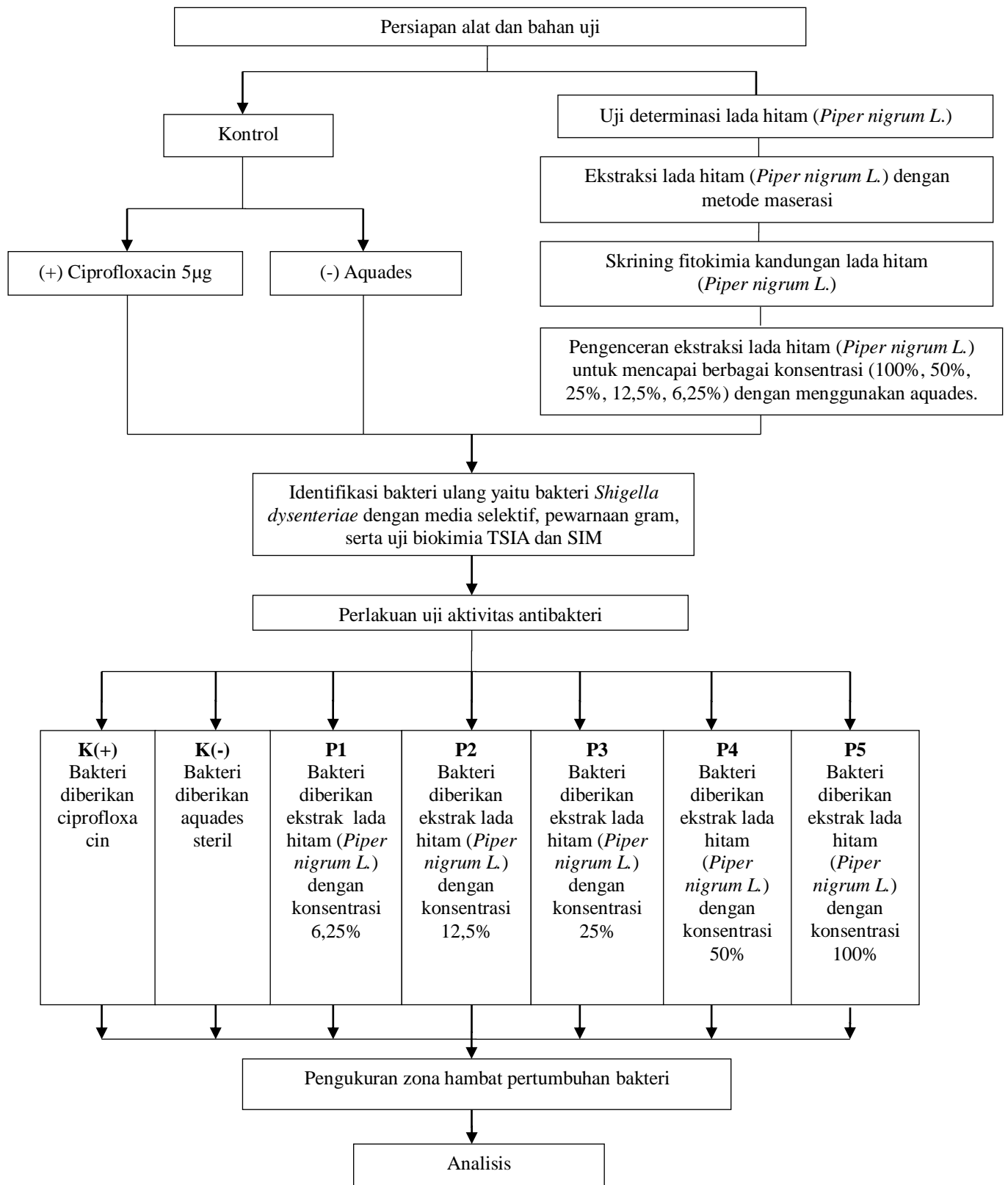
Mengacu pada perhitungan dengan menggunakan rumus Federer di atas, maka jumlah pengulangan pada setiap perlakuan lebih besar atau sama dengan 3,5. Untuk menghindari terjadinya kesalahan, maka jumlah pengulangan ini dibulatkan menjadi 4 kali pengulangan pada setiap perlakuan. Hasil yang didapatkan pada perhitungan ini digunakan sebagai acuan pengulangan perlakuan pada penelitian ini. Jadi, pada penelitian ini bakteri *Shigella dysenteriae* akan diberikan perlakuan sebanyak 28 kali perlakuan.

3.6.1 Kelompok Perlakuan

Tabel 3.2 Kelompok Perlakuan

No	Kelompok	Perlakuan
1.	Kontrol Positif (+)	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ciprofloxacin.
2.	Kontrol Negatif (-)	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan aquades steril.
3.	Perlakuan 1	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ekstrak lada hitam dengan konsentrasi 6,25%.
4.	Perlakuan 2	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ekstrak lada hitam dengan konsentrasi 12,5%.
5.	Perlakuan 3	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ekstrak lada hitam dengan konsentrasi 25%.
6.	Perlakuan 4	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ekstrak lada hitam dengan konsentrasi 50%.
7.	Perlakuan 5	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ekstrak lada hitam dengan konsentrasi 100%.

3.6.2 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Persiapan

a. Alat Penelitian

1. Rak dan tabung reaksi
2. Ose
3. Gelas beker
4. Pipet
5. Kapas alkohol
6. Cawan petri
7. Alat pengaduk
8. Autoklaf
9. Inkubator
10. Blender
11. Bunsen dan korek api
12. Swab kapas
13. Kertas cakram kosong (*blank disc*)
14. *Vortex*
15. *Rotatory evaporator*

b. Bahan Penelitian

1. Ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) yang diperoleh dari ekstraksi metode maserasi lada hitam.
2. Isolat bakteri *Shigella dysenteriae*
3. *Salmonella-Shigella Agar (SSA)*
4. MHA (*Mueller Hinton Agar*), media SIM (*Sulfit Indole Motility*), media agar TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) dan reagen Kovac's
5. Ciprofloxacin *disc* 5 µg
6. Aquades
7. Etanol 96%

3.7.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan bahwa bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini memang merupakan buah lada hitam (*Piper nigrum L.*). Determinasi lada hitam dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.7.3 Sterilisasi Alat

Berbagai alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini disterilisasi, kecuali ekstrak lada hitam dan juga suspensi bakteri yang digunakan. Sterilisasi alat dan bahan penelitian ini dilakukan untuk memastikan bahwa semua yang dipakai dalam penelitian ini bebas dari pengaruh mikroorganisme lainnya yang dapat memengaruhi hasil dari penelitian yang dilakukan. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan dilakukan selama 15-20 menit. Alat-alat yang digunakan kemudian ditunggu hingga mencapai suhu kamar dan dalam keadaan yang kering (Nurani & Soleha, 2020).

3.7.4 Ekstraksi Lada Hitam (*Piper nigrum L.*)

Ekstraksi lada hitam (*Piper nigrum L.*) dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi yang sangat umum dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman kemudian direndam dengan menggunakan pelarut yang sesuai pada wadah yang kemudian ditutup rapat pada suhu kamar selama kurang lebih 24 jam. Metode maserasi lebih baik daripada metode lainnya karena mudah untuk dilakukan dan sederhana (Badaring *et al.*, 2020). Etanol dipilih sebagai pelarut karena etanol 96% dapat menghasilkan kadar piperin yang tinggi. Etanol juga memiliki polaritas yang tinggi sehingga akan lebih mudah larut daripada pelarut lainnya (Andini *et al.*, 2023). Langkah-langkah ekstraksinya adalah sebagai berikut:

1. Lada hitam dikeringkan di bawah sinar matahari, kemudian dihaluskan dengan cara diblender.
2. Timbang lada hitam yang sudah dihaluskan dengan *blender* sebanyak 500 gram (sampel kering) agar senyawa aktif yang dimiliki lada hitam dapat larut dalam etanol 96%.
3. Kemudian sampel kering hasil blenderan direndam pelarut etanol 96% dengan volume 2500 cc dengan perbandingan 1:5 (antara simplisia dengan pelarut) dan kocok sampai benar-benar tercampur kurang lebih sekitar 30 menit kemudian diamkan selama 24-96 jam dengan beberapa kali pengadukan menggunakan batang pengaduk.
4. Setelah itu, filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

3.7.5 Skrining Fitokimia

3.7.5.1 Uji Alkaloid

Sampel sejumlah 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 tetes kloroform dan 5 tetes pereaksi Mayer (1 gr KI dilarutkan dalam 20 mL aquades, ditambahkan 0,271 g HgCl₂ hingga larut) dan dikocok kemudian diamati. Hasil positif apabila terdapat perubahan warna larutan menjadi putih kecoklatan (Kartikasari *et al.*, 2022).

3.7.5.2 Uji Saponin

Sampel sejumlah 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 mL aquades kemudian dikocok selama 30 detik dan diamati. Hasil positif apabila terdapat busa yang terlihat (Kartikasari *et al.*, 2022).

3.7.5.3 Uji Steroid dan Terpenoid

Sampel sejumlah 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat glasial dan 0,5 mL

H₂SO₄ kemudian diamati. Hasil positif terdapat senyawa steroid apabila warna sampel berubah menjadi biru/ungu/hijau . Dikatakan positif mengandung senyawa terpenoid apabila sampel berubah menjadi warna merah atau kuning. (Kartikasari *et al.*, 2022).

3.7.5.4 Uji Tanin

Sampel sejumlah 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 10% kemudian dikocok dan diamati. Hasil positif apabila terdapat perubahan warna larutan menjadi hitam kebiruan (Kartikasari *et al.*, 2022).

3.7.5.5 Uji Flavonoid

Sampel sejumlah 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk Mg dan 0,5 mL HCl pekat (tetes demi tetes) kemudian dikocok dan diamati. Hasil positif apabila terdapat perubahan warna larutan menjadi merah/kuning/coklat ada busa (Kartikasari *et al.*, 2022).

3.7.5.6 Uji Fenolik

Sampel sejumlah 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 2% kemudian dikocok dan diamati. Hasil positif apabila terdapat perubahan warna larutan menjadi hitam kebiruan (Kartikasari *et al.*, 2022).

3.7.6 Pengenceran Ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum L.*)

Ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) dengan konsentrasi 100%, selanjutnya diencerkan dengan aquades untuk memperoleh konsentrasi ekstrak sebesar 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% menggunakan perhitungan berikut:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan:

N1 = Konsentrasi awal

V1 = Volume awal

N2 = Konsentrasi akhir

V2 = Volume akhir

1. Ekstrak dengan konsentrasi 50%

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 100\% \times V_1 &= 50\% \times 10 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{50\% \times 10 \text{ ml}}{100\%} \\ V_1 &= 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

(5 ml ekstrak dan 5 ml aquadest)

2. Ekstrak dengan konsentrasi 25%

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 100\% \times V_1 &= 25\% \times 10 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{25\% \times 10 \text{ ml}}{100\%} \\ V_1 &= 2,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

(2,5 ml ekstrak dan 7,5 ml aquadest)

3. Ekstrak dengan konsentrasi 12,5%

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 100\% \times V_1 &= 12,5\% \times 10 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{12,5\% \times 10 \text{ ml}}{100\%} \\ V_1 &= 1,25 \text{ ml} \end{aligned}$$

(1,25 ml ekstrak dan 8,75 ml aquadest)

4. Ekstrak dengan konsentrasi 6,25%

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$100\% \times V_1 = 12,5\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{6,25\% \times 10 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V_1 = 0,625 \text{ ml}$$

(0,625 ml ekstrak dan 9,375 ml aquadest)

3.7.7 Identifikasi Bakteri Ulang

Identifikasi sampel dari bakteri perlu dilakukan untuk dapat mengonfirmasi bahwa bakteri yang kita uji adalah bakteri yang memang ingin kita uji dan tidak ada mikroorganisme lainnya yang mengkontaminasi sampel bakteri yang kita gunakan. Identifikasi bakteri uji dilakukan dengan pewarnaan gram dan juga beberapa uji biokimiawi sebagai berikut:

1. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk dapat membedakan kelompok bakteri gram positif dan negatif, dimana pada bakteri yang merupakan kelompok gram positif akan terlihat keunguan sedangkan pada bakteri gram negatif akan terlihat kemerahan atau merah muda (Apriyanthi *et al.*, 2022). Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri gram negatif yang harusnya terlihat kemerahan atau merah muda setelah dilakukan pewarnaan gram dan dilihat di bawah mikroskop.

Langkah uji pewarnaan gram adalah sebagai berikut:

- a. Sterilkan *object glass* kemudian teteskan NaCl fisiologis sebanyak 1 tetes.
- b. Kemudian koloni bakteri *Shigella dysenteriae* diambil menggunakan ose dan diapus di atas *object glass*.
- c. Teteskan pewarna dasar yaitu *crystal violet* sebanyak 1 tetes kemudian didiamkan selama 1 menit.

- d. Selanjutnya, bilas dengan di bawah air mengalir sampai pewarna *crystal violet* yang berlebih hilang.
- e. Preparat kemudian dibilang lagi dengan menggunakan iodin kemudian didiamkan selama kurang lebih 1-2 menit.
- f. Setelah itu, preparat dibasuh menggunakan etanol 96% selama 5-10 detik kemudian dibiarkan kurang lebih 1 menit dan setelah itu dibilas di bawah air mengalir.
- g. Kemudian preparat digenangi dengan safranin dan didiamkan selama 1 menit kemudian dicuci di bawah air mengalir dan dikeringkan dengan diangin-anginkan.
- h. Jika sudah kering, preparat dapat diamati di bawah mikroskop (Alifya *et al.*, 2022).

2. Identifikasi Bakteri Ulang pada Media Selektif

Identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* dilakukan dengan penanaman isolat bakteri pada media selektif *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Bakteri genus *Shigella* akan memiliki warna putih, bila hitam maka biasanya merupakan bakteri dari genus *Salmonella*. Hal ini dapat terjadi karena komponen utama dari media SSA yang berperan dalam selektivitasnya adalah laktosa, pepton, garam empedu, besi (III) sitrat dan indikator *retusal red* dimana prinsip diferensiasi dari kedua jenis bakteri tersebut dilihat dari kemampuan metabolismenya. Bakteri dari genus *Salmonella* dapat menghasilkan H₂S dan tiosulfat reduktase yang menyebabkan koloni bakteri akan terlihat berwarna hitam gelap dan menimbulkan bau yang kurang sedap. Namun, bakteri dari genus *Shigella* tidak memfermentasikan laktosa, tidak menghasilkan H₂S, atau enzim tiosulfat reduktase, yang menyebabkan koloni bakteri *Shigella* menjadi putih, tidak berwarna, atau kuning (Muktiningsih *et al.*, 2016; Parija, 2016).

3. Uji Biokimia

Untuk memastikan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri *Shigella dysenteriae* maka perlu dilakukan uji biokimia seperti uji *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)* dan uji *Sulfit Indole Motility (SIM)*. Uji TSIA merupakan uji yang dilakukan untuk melihat kemampuan dari bakteri dalam memfermentasikan gula yang kemudian akan menghasilkan asam atau gas. Adapun cara melakukan uji TSIA ini adalah dengan cara mengambil 1 ose bakteri pada isolat media SSA yang kemudian diinokulasikan dengan cara menggores dan cara tusuk pada media miring TSIA kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari. Permukaan yang memiliki warna merah menunjukkan reaksi basa, sedangkan permukaan dengan warna kuning menunjukkan reaksi asam. Warna merah pada permukaan agar mengindikasikan bahwa bakteri memfermentasikan glukosa sedangkan warna kuning pada bagian permukaan dan bawah tabung mengindikasikan bahwa bakteri memfermentasikan laktosa dan sukrosa. Pada uji TSIA juga dapat kita lihat apakah bakteri memproduksi H₂S yang ditandai dengan warna kehitaman pada agar hingga menutupi warna dasar dari agar dengan atau tanpa memproduksi gas (Aini, 2018).

Uji SIM dilakukan dengan tujuan untuk dapat mengetahui pergerakan bakteri, produksi indol dan pembentukan gas H₂S. Adapun cara melakukan uji SIM adalah dengan menginokulasikan bakteri pada media agar SIM kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian dilakukan dengan menambahkan 5-10 tetes reagen *Kovac's* untuk menguji indole dari bakteri. Uji indole dikatakan positif apabila terbentuk lapisan berwarna merah pada permukaan atas dari media. Untuk menguji motilitas, bakteri diinokulasikan pada media SIM kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Uji motilitas dikatakan positif apabila bakteri menyebar pada media SIM (Kursia *et al.*, 2019).

3.7.8 Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan *McFarland*

Kekeruhan biakan bakteri dalam medium cair biasanya diukur dengan larutan baku *McFarland* 0,5. Larutan baku *McFarland* terdiri dari 2 komponen, yaitu BaCl_2 1% 0,05 mL dan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL dan diaduk hingga homogen kemudian disimpan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung. Untuk membandingkan suspensi bakteri, larutan harus diaduk terlebih dahulu sampai homogen. Nilai absorbansi larutan *McFarland* 0,5 setara dengan suspensi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Aviany & Pujiyanto, 2020)

3.7.9 Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri dengan *strain* murni *Shigella dysenteriae* dibuat menjadi suspensi dengan memasukkan 10 mL NaCl 0,9% ke dalam tabung yang berbeda hingga diperoleh kekeruhan yang disesuaikan dengan standar kekeruhan 0,5 *McFarland* yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml bakteri. Standar kekeruhan dapat kita pastikan dengan melakukan perbandingan antara tabung suspensi bakteri dengan tabung *McFarland* secara berdampingan secara kasat mata menggunakan latar belakang kertas putih dengan garis hitam kontras yang dilakukan oleh dua orang pengamat dalam ruangan yang terang. Jika suspensi dirasa kurang keruh, dapat ditambahkan koloni bakteri, dan apabila terlalu keruh suspensi bakteri dapat ditambahkan NaCl 0,9% sampai didapat kekeruhan yang sama antara dua pengamat tersebut (Misna & Diana, 2016).

3.7.10 Teknik Pembuatan Media Agar MHA (*Mueller Hinton Agar*)

Timbang sejumlah 9,5 gram *Muller Hinton Agar* 38 gr/l dengan komposisi medium (*Beef infusion* 300 gram, *Casamino acid* 17,5 gram, *Starch* 1,5 gram, dan agar), kemudian larutkan dalam 250 ml aquades lalu dipanaskan sampai mendidih, kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan tekanan udara 1 atm dan suhu 121°C (Hudaya *et al.*, 2014).

3.7.11 Uji Aktivitas Antibakteri

1. Kertas cakram uji kosong diteteskan dengan 50 µl larutan ekstrak lada hitam konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100% kemudian dibiarkan selama 15 menit.
2. Bakteri diencerkan dengan mencampurkan 1 ose suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl.
3. Suspensi bakteri kemudian dihomogenkan dengan *vortex* dan kekeruhannya distandarisasi dengan konsentrasi 0,5 *McFarland* sehingga jumlah bakteri sesuai standar untuk uji kepekaan, yaitu 10^8 /ml bakteri.
4. Suspensi *Shigella dysenteriae* yang telah distandarisasi dengan 0,5 *McFarland* digoreskan pada masing-masing media *Mueller Hinton Agar* (MHA) berbeda yang telah dipersiapkan sebelumnya.
5. Cakram uji yang sudah ditetesi larutan ekstrak lada hitam diletakkan pada bagian atas dari permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) secara higienis di dalam *laminar air flow*.
6. Kontrol negatif yang digunakan adalah kertas cakram kosong yang kemudian diteteskan dengan 50 µl aquades kemudian dibiarkan selama 15 menit.
7. Kontrol positif yang digunakan adalah kertas cakram antibiotik yang sudah mengandung antibiotik ciprofloxacin yang kemudian diletakkan pada permukaan media MHA.
8. Media yang telah dibuat tersebut kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Nurani & Soleha, 2020).
9. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran diameter zona bening (*clear zone*) dengan menggunakan jangka sorong. Adapun kriteria zona hambat pertumbuhan bakteri adalah seperti yang tersaji dalam tabel berikut:

Tabel 3.3 Klasifikasi Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori
≤ 5	Lemah
6-10	Sedang
11-20	Kuat
> 20	Sangat Kuat

(Davis & Stout, 1971)

10. Prosedur di atas dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali pada setiap variabel terikat.

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

3.8.1 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian kemudian diubah ke dalam bentuk tabel, kemudian dilakukan pengolahan data dengan menggunakan program IBM SPSS *Statistic for Windows* $\alpha = 0,05$. Proses pengolahan data dilakukan menggunakan program komputer yang terdiri dari beberapa langkah, di antaranya:

1. *Editing*, merupakan kegiatan pengecekan dan perbaikan data penelitian.
2. *Coding*, merupakan kegiatan mengubah bentuk data yang sesuai untuk diolah.
3. *Data entry*, merupakan kegiatan memasukkan data penelitian ke dalam komputer.
4. *Cleaning*, merupakan kegiatan pengecekan ulang data dari setiap sumber data hasil penelitian untuk melihat kemungkinan adanya kesalahan kode, ketidaklengkapan, dan kemudian dilakukan koreksi.

3.8.2 Analisis Data

3.8.2.1 Analisis Univariat

Analisis univariat dilakukan untuk dapat menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik tiap variabel penelitian. Untuk data numerik, digunakan nilai mean atau rata-rata dan standar

deviasi. Pada umumnya dalam analisis ini hanya menghasilkan distribusi/persebaran dari data yang diperoleh.

3.8.2.2 Analisis Bivariat

Analisis bivariat merupakan jenis analisis data yang digunakan untuk dapat melihat hubungan variabel independen dengan variabel dependen. Analisis dilakukan dengan uji normalitas dan uji hipotesis. Besar sampel penelitian ini <50 , maka digunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data sedangkan untuk uji homogenitas digunakan uji *Levene* statistik. Distribusi data dapat dikatakan normal dan homogen jika $p > 0,05$ dan jika $p < 0,05$ distribusi data tidak normal dan tidak homogen. Analisis ini digunakan untuk dapat melakukan analisis variabel independen, yaitu untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak buah lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Pada data penelitian ini didapatkan bahwa distribusi data tidak normal dan distribusi beberapa set data yang dibandingkan mempunyai varians yang berbeda atau tidak homogen. Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Pos Hoc Mann-Whitney*.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini telah melalui kaji etik dan mendapatkan izin etik (*ethical clearance*). Penelitian ini telah mematuhi dan mengikuti standar etika dan norma penelitian yang ditetapkan oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yang tertuang dalam Surat Keputusan Etik dengan nomor surat 104/UN26.18/PP.05.02.00/2024 yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Hal ini telah dibuktikan dengan terbentuknya *clear zone* (zona bening) di daerah sekitar cakram yang telah diberi perlakuan berupa ekstrak dari lada hitam (*Piper nigrum L.*) dengan konsentrasi bertingkat.
2. Pada penelitian ini, ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) pada berbagai tingkat konsentrasi memiliki pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* sudah dapat ditemukan pada konsentrasi ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*) terkecil yaitu 6,25% dengan rerata diameter zona hambatnya sebesar 0,22 mm disusul dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100% dengan rerata diameter zona hambat secara berturut-turut sebesar 0,35 mm, 0,58 mm, 1,97 mm, dan 6,65 mm.
3. Pada penelitian ini didapatkan bahwa kelompok perlakuan dengan konsentrasi 6,25% memiliki perbedaan rerata yang signifikan dengan kelompok perlakuan konsentrasi 50% dan 100%. Kemudian untuk kelompok perlakuan dengan konsentrasi 12,5% memiliki perbedaan rerata yang signifikan dengan kelompok perlakuan 50% dan 100%. Kelompok perlakuan dengan konsentrasi 25% memiliki perbedaan rerata yang signifikan dengan kelompok perlakuan konsentrasi 100%. Untuk kelompok perlakuan dengan konsentrasi 50% memiliki perbedaan rerata yang signifikan dengan kelompok perlakuan dengan konsentrasi 6,25%,

12,5%, dan 100%. Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 100% memiliki perbedaan rerata yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan:

5.2.1 Bagi Peneliti Selanjutnya

1. Dapat dilakukan uji serupa dengan mengganti pelarut yang digunakan dalam ekstraksi.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa spesifik yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak lada hitam (*Piper nigrum L.*).
3. Dapat dilakukan pengujian konsentrasi bunuh minimal (KBM) dan konsentrasi hambat minimal (KHM).

DAFTAR PUSTAKA

- Aini F. 2018. Isolasi dan Identifikasi *Shigella sp.* Penyebab Diare Pada Balita. *Bio-Site*. 4(1):1-40.
- Al-Khayri JM, Upadhya V, Pai SR, Naik PM, Al-Mssalem, Alessa FM. 2022. Comparative Quantification of the Phenolic Compounds, Piperine Content, and Total Polyphenols along with the Antioxidant Activities in the *Piper trichostachyon* and *P. nigrum*. *Molecules*. 27(1):1-13.
- Alifya S, Erina, Novita A, Rastina, Daud M, Hennivanda. 2022. Deteksi Cemaran Bakteri *Shigella Sp.* Pada Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*) di Pasar Al-Mahira Banda Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner (JIMVET)*. 6(4):226-233.
- Alfauzi RA, Hartati L, Suhendra, D, Rahayu TP, Hidayah N. 2022. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Kulit Jengkol (*Archidendron jiringa*) dengan Konsentrasi Pelarut Metanol Berbeda sebagai Pakan Tambahan Ternak Ruminansia. *Jurnal Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan*. 20(3):95-103.
- Andini S, Yulianita Y, Febriani ENK. 2023. Formulasi Sediaan Nanoemulgel Ekstrak Buah Lada Hitam (*Piper nigrum L.*) dengan Variasi Konsentrasi Tween 80 dan PEG 400. *Majalah Farmasetika*. 8(3):250-266.
- Anggita D, Nuraisyah S, Wiriansya EP. 2022. Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal*. 7(1):46–58.
- Apriyanthi DPRV, Laksmita AS, Widayanti NP. 2022. Identifikasi Bakteri Kontaminasi pada Gelang Tri Datu. *Jurnal Biologi Makassar*. 7(2): 24–33.
- Arsa AK, Achmad Z. 2020. Ekstraksi Minyak Atsiri dari Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa Roxb*) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. 13(1):83-94.
- Ashokkumar K, Murugan M, Dhanya MK, Pandian A, Warkentin TD. 2021. Phytochemistry And Therapeutic Potential Of Black Pepper [*Piper Nigrum* (L .)] Essential Oil And Piperine : A Review. *Clinical Phytoscience*. 7(52):1-11.
- Aviany HB, Pujiyanto S. 2020. Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Berkala Bioteknologi*. 3(2): 24–31.

- Badaring DR, Sari SPM, Nurhabiba S, Wulan W, Lembang SAR. 2020. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Indonesian Journal of Fundamental Sciences. 6(1):16-26.
- CDC. 2018. *Shigella dysenteriae* Bacteria. Centers for Disease Control and Prevention. <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=22177>.
- Chrismayanti NKSD, Suastini KD, Cawis NLSA, Dewi NWS. 2020. Pengaruh Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*. Hang Tuah Medical Journal. 17(2):136-146.
- CLSI. 2020. Clinical and Laboratory Standards Institute 2020. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing:Thirty Informational Supplement M100. In CLSI.
- Davis W, Stout T. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. Microbiology. 22(4): 659-665.
- Dejkam A, Hatam-Nahavandi K. 2021. Dysentery In Children. Iranian Journal of Public Health. 50(9):1930–1931.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2020. Statistik Perkebunan Indonesia 2018-2020. Secretariate of Directorate General of Estates.
- Engelkirk PG. 2018. Burton's Microbiology for the Health Sciences 11th Ed. New York: Jones & Bartlett Learning
- Feng Y, Dunshea FR, Suleria HAR. 2020. LC-ESI-QTOF/MS Characterization of Bioactive Compounds From Black Spices and Their Potential Antioxidant Activities. Journal of Food Science and Technology. 57(12):4671-4687.
- Gajic I, Kabic J, Kekic D, Jovicevic M, Milenkovic M, Culafic DM, *et al.* 2022. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. Antibiotics. 11(4):1–26.
- Ganesh P, Kumar SR, Saranraj P. 2014. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity Of Pepper (*Piper nigrum L.*) Against Some Human Pathogens. Scholars Research Library Central European Journal of Experimental Biology. 3(2):36-41.
- Hasriyani, Zulfa A, Anggun L, Murhayati R. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper nigrum L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Indonesia Jurnal Farmasi Volume. 4(1):6–11.
- Hikmah N, Arung ET, Sukemi. 2020. Senyawa Fenolik dan Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Buah Ithau (*Dimocarpus Longan Lour. Var. Malesianus Leenh.*). Bivalen: Chemical Studies Journal. 3(2):39-42.

- Hikmawanti NPE, Hariyanti, Aulia C, Viransa VP. 2016. Kandungan Piperin Dalam Ekstrak Buah Lada Hitam Dan Buah Lada Putih (*Piper nigrum L.*) Yang Diesktraksi Dengan Variasi Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode KLT-Densitometri. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*. 13(2):173-185.
- Hudaya A, Radiastuti N, Sukandar D, Djajanegara I. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri *E. Coli* Dan *S. Aureus* Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Biologi*. 7(1):9-15.
- Hussen S, Mulatu G, Yohannes Kassa Z. 2019. Prevalence of *Shigella species* and its Drug Resistance Pattern in Ethiopia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 18(1):1–11.
- Irawan J, Hidayah Putri M, Himayani R, Dewi Puspita Sari R. 2021. Disentri Basiler. *Medula*. 11(2): 277–283.
- Jafar W, Masriany, Sukmawaty E. 2020. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Pohon Hujan (*Spathodea campanulata*) secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. 1(1):328-334.
- Kartikasari D, Rahman IR, Ridha A. 2022. Uji Fitokimia Pada Daun Kesum (*Polygonum minus Huds.*) dari Kalimantan Barat. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 5(1):35-42.
- Kementerian Kesehatan RI. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia 2017 Edisi II*. Kemenkes RI:Jakarta.
- Kotloff KL, Riddle MS, Platts-Mills JA, Pavlinac P, Zaidi AKM. 2018. Shigellosis. *In The Lancet*.
- Lingga AR, Pato U, Rossi E. 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa Horan*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Online Mahasiswa Faperta*. 3(1):1-15.
- Magani AK, Tallei TE, Kolondam BJ. 2020. Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*. 10(1):7-12.
- Manongko PS, Sangi MS, Momuat LI. 2020. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*). *Jurnal MIPA*. 9(2):64-69.
- Mariselvi S, Manimegalai K. 2017. Phytochemical Screening And Xrd Analysis Of Black Pepper *Piper nigrum*. *International Journal of Current Advanced Research*. 6(7):4992-4994.
- Mgbeahuruike EE, Stålnacke M, Vuorela H, Holm Y. 2019. Antimicrobial and synergistic Effects of Commercial Piperine and Piperlongumine In Combination With Conventional Antimicrobials. *Antibiotics*. 8(2):1-12.

- Mierza V, Antolin S, Ichani A, Dwi N, Sridevi A, Dwi S. 2023. Research Article: Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid. *Jurnal Surya Medika*. 9(2):134-141.
- Misna, Diana K. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika*. 2(2):138-144.
- Muktiningsih M, Kurniadewi F, Orchidea RPI. 2016. Isolasi, Amplifikasi Dan Sekuensing Fragmen 1,9 Kilobasa Gen Heat Shock Protein 70 *Salmonella Enterica Serovar Typhi*. *JPKK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*. 1(1): 32-40.
- Naufal FA, Krisnamurthi B, Baga LM. 2022. Analisis Faktor-Faktor yang Memengaruhi Produksi Lada di Provinsi Lampung. *Forum Agribisnis*. 12(1): 1–11.
- Newerli-Guz J, Smiechowska M. 2022. Health Benefits and Risks of Consuming Spices on the Example of Black Pepper and Cinnamon. *Foods*. 11(1):1-22.
- Ningsih S, Andriani Y, Rahmadevi. 2021. Penggunaan Antibiotik Restriksi pada Pasien Ulkus, Abses dan Batu Kandung Kemih di Bangsal Bedah RSUD H. Abdul Manap Kota Jambi Periode 2017-2019. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 3(3):359-364.
- Nurani LW, Soleha TU. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Pisang Muli (*Musa acuminata*) terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *Medula*. 9(4):646-650.
- Nuzhat S, Das R, Das S, Islam SB, Palit P, Haque M, *et al.* 2022. Antimicrobial Resistance in Shigellosis: A Surveillance Study Among Urban and Rural Children Over 20 Years in Bangladesh. *PLoS ONE*. 17(11):1–16.
- Parija SC. 2016. *Microbiology and Immunology Textbook of 3rd Edition*. In Elsevier.
- Prabhurajeshwar C, Kelmani C. 2018. Shigellosis: A Conformity Review of the Microbiology, Pathogenesis and Epidemiology with Consequence for Prevention and Management Issues. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 12(1):405-417.
- Pratiwi A, Wiyono WI, Jayanto I. 2020. Pengetahuan Dan Penggunaan Antibiotik Secara Swamedikasi Pada Masyarakat Di Kota Manado. *Pharmacon*. 12(3):176-185.
- Puspitasari AD, Proyogo LS. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*. 1(2):1–8.
- Putri IZ, Effendi M, Sumarno. 2017. Perbedaan Efek Antibakteri Ekstrak Etanol

- Lada Hitam (*Piper nigrum L.*) dengan Ekstrak Etanol Lada Putih (*Piper nigrum L.*) terhadap *Streptococcus mutans* secara *In Vitro*. E-Prodenta Journal of Dentistry. 1(1):1-7.
- Putri PA, Chatri M, Advinda L, Violita. 2023. Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. Serambi Biologi. 8(2):251-258.
- Puzari M, Sharma M, Chetia P. 2018. Emergence Of Antibiotic Resistant *Shigella* Species: A Matter of Concern. Journal of Infection and Public Health. 11(4):451-454.
- Qomar MS, Budiyanto MAK, Sukarsono, Wahyuni S, Husamah. 2018. Efektivitas Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii [Ness.] BI*) Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Jurnal Biota. 4(1):12-18.
- Ranjbar R, Farahani A. 2019. Shigella: Antibiotic-Resistance Mechanisms and New Horizons For Treatment. Infection and Drug Resistance. 12(1):3137–3167.
- Reiza IA, Rijai L, Mahmudah F. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus (L.) Merr.*). Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences.
- Renda YK, Pote LL, Nadut A. 2023. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Kulit Batang Tumbuhan Halay (*Alstonia spectabilis R. Br*) Asal Desa Wee Rame Kabupaten Sumba Barat Daya. Jurnal Sains dan Edukasi Sains. 6(1):44-50.
- Rogawski Mcquade ET, Fariha S, Kabir F, Rizvi A, Platts-Mills J, Aziz F, *et al.* 2020. Epidemiology of Shigella Infections and Diarrhea in The First Two Years of Life Using Culture-Independent Diagnostics In 8 Low-Resource Settings. PLoS Neglected Tropical Diseases. 14(8):1–17.
- Safitri D, Roanisca O, Mahardika RG. 2021. Potensi Ekstrak Daun Senduduk (*Melastoma malabathricum Linn.*) Sebagai Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Chimica et Natura Acta. 9(2):74-80.
- Sari, Yustiantara, Paramita, Wirasuta. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne*. Jurnal Farmasi Udayana. 3(2):40-43.
- Sari N, Erina, Abrar M, Wardani E, Fakhurrrazi, Daud R. 2018. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella sp* dan *Shigella sp* Pada Feses Kuda Bendi di Bukittinggi Sumatera Barat. JIMVET. 2(3):402–410.
- Salehi B, Zakaria ZA, Gyawali R, Ibrahim SA, Rajkovic J, Shinwari ZK, *et al.* 2019. *Piper Species*: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. Molecules. 24(7):1-118.

- Sarjani TM, Mawardi M, Pandia ES, Wulandari D. 2017. Identifikasi Morfologi dan Anatomi Tipe Stomata Famili Piperaceae di Kota Langsa. *Jurnal IPA & Pembelajaran IPA*. 1(2):182-191.
- Savitri GR, Triatmoko B, Nugraha AS. 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tumbuhan Anyang-Anyang (*Elaeocarpus grandiflorus* J. E. Smith.) terhadap *Escherichia coli*. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 5(1):22-32.
- Sharma D, Patel RP, Zaidi STR, Sarker MMR, Lean QY, Ming LC. 2017. Interplay of The Quality of Ciprofloxacin and Antibiotic Resistance in Developing Countries. *Frontiers in Pharmacology*. 8(1):1-7.
- Srivastava AK, Singh VK. 2017. Biological Action of *Piper nigrum* - The King Of Spices. *European Journal of Biological Research*. 7(3):223-233.
- Tiwari A, Mahadik KR, Gabhe SY. 2020. Piperine: A Comprehensive Review of Methods of Isolation, Purification, and Biological Properties. *Medicine in Drug Discovery*. 7(1):1-21.
- Tortora G, Funke B, Case C. 2019. *Microbiology : an introduction*. New York: Pearson Education.
- Warnis M, Salsabila J, Rulianti MR. 2021. Pemeriksaan Rendemen, Kadar Sari Larut Air, dan Kadar Sari Larut Etanol dari Ekstrak Batang Brotowali. *Jurnal Kesehatan Farmasi*. 3(2):118-123.
- Williams PCM, Berkley JA. 2018. Guidelines For The Treatment of Dysentery (Shigellosis): A Systematic Review Of The Evidence. *Paediatrics And International Child Health*. 30(1):S50-S65.
- Wiranata IG, Sasadara MMV. 2022. Pengaruh Pelarut dan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder dan Nilai IC50 Ekstrak Umbi Bit (*Beta vulgaris L.*). *Jurnal Integrasi Obat Tradisional*. 2(1):7-13.
- Wirantika R, Hariyono D. 2019. Studi Perubahan Curah Hujan dan Hubungannya dengan Produktivitas Tanaman Lada (*Piper nigrum L.*) di Kabupaten Lampung Timur. *Jurnal Produksi Tanaman*. 7(4):1271-1277.
- Wulandari W, Octavia MD, Sari YN, Rivai H. 2021. Review : Black Pepper (*Piper Nigrum L.*) Botanical Aspects, Chemical Content, Pharmacological Activities. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine (IJPSM)*. 6(1):83-91.
- Yudiyanto. 2015. Tanaman Lada Dalam Perspektif Autekologi. In *AURA (Anugrah Utama Raharja)*.
- Yulianti W, Ayuningtyas G, Martini R, Resmeiliana I. 2020. Pengaruh Metode Ekstraksi dan Polaritas Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Total Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*). *Jurnal Sains Terapan*. 10(2):41-49.

- Zeniusa P, Ramadhian MR, Nasution SH, Karima N. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. Majority. 8(2):136-143.
- Zhang QW, Lin LG, Ye WC. 2018. Techniques for Extraction and Isolation Of Natural Products: A Comprehensive Review. Chinese Medicine (United Kingdom). 13(1):1–26.
- Zou L, Hu YY, Chen WX. 2015. Antibacterial Mechanism And Activities Of Black Pepper Chloroform Extract. Journal of Food Science and Technology. 52(12): 8196-8203.