

ARTIKEL PENELITIAN

Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*

Veren Evelyn Chandra¹, Syarifah Nurul Yanti R. S. A², Mardhia Mardhia³, Mahyarudin Mahyarudin⁴

1. Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat; 2. Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat; 3. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat; 4. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat

Korespondensi: Syarifah Nurul Yanti; email: nurulyanti@medical.untan.ac.id; nomor HP: 081286151166

Abstrak

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas air perasan jeruk sambal sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. **Metode:** Skrining fitokimia air perasan jeruk sambal dilaksanakan dengan pengujian secara kualitatif. Proses pembuatan air perasan jeruk sambal dimulai dengan memotong buah jeruk sambal menjadi dua bagian, kemudian diperas dan disaring sebanyak dua kali. Penyaringan dilakukan dengan menggunakan saringan plastik dan kertas saring steril. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 5 µg/disk, sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades steril. **Hasil:** Berdasarkan hasil uji metabolit yang telah dilaksanakan sebelumnya, didapatkan saponin (+++) sebagai metabolit sekunder dominan yang terkandung dalam air perasan jeruk sambal. Selain itu, air perasan jeruk sambal juga mengandung metabolit sekunder lainnya, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenol. Pengujian aktivitas antibakteri air perasan jeruk sambal menunjukkan adanya zona hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. **Kesimpulan:** Air perasan jeruk sambal memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro.

Kata kunci: Antibakteri; *Citrus microcarpa* Bunge; *Escherichia coli*

Abstract

Objective: This study aim to determine the activity of jeruk sambal juice as antibacterial against *Escherichia coli* growth. **Methods:** Phytochemical screening was carried out by qualitative testing. The process of making jeruk sambal juice begins with cutting jeruk sambal fruit into two, then squeezed and filtered it twice. Filtering uses a plastic filter and sterile filter papers. The antibacterial activity test using disc diffusion method with the concentration of 25%, 50%, 75%, and 100%. The positive controls used Ciprofloxacin 5 µg/disc, while the negative controls used sterile distilled water. **Results:** Based on the results of the metabolite test that had been carried out previously, it was found that saponin (+++) were the dominant secondary metabolites contained in jeruk sambal juice. In addition, jeruk sambal juice also contains other secondary metabolites, such as alkaloid, flavonoid, saponin, tannins, and phenols. Antibacterial activity test of jeruk sambal juice show the presence of inhibition zones at concentration 25%, 50%, 75%, and 100%. **Conclusions:** Jeruk sambal juice have antibacterial activity against *Escherichia coli* in vitros.

Keywords: Antibacterial; *Citrus microcarpa* Bunge; *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Diare adalah gangguan Buang Air Besar (BAB) dengan konsistensi tinja yang cair dengan frekuensi BAB lebih dari 3 kali sehari.¹ Diare adalah masalah kesehatan yang sering dialami oleh masyarakat dan merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada bayi maupun anak kecil. Negara berkembang, seperti Afrika dan Indonesia lebih sering mengalami kejadian diare dikarenakan sanitasi lingkungan yang buruk.² Menurut WHO, terdapat 2 miliar orang dewasa dan 1,7 miliar anak terserang diare setiap tahunnya.³ Berdasarkan laporan nasional riset kesehatan dasar (Riskesdas) pada tahun 2018, prevalensi penyakit diare meningkat sebanyak 3 kali lipat sejak 2013.¹

Escherichia coli merupakan penyebab tersering diare setelah rotavirus.⁴ Menurut WHO, 30-40% kejadian diare di negara berkembang disebabkan oleh *Escherichia coli* dan sekitar 200.000 orang diantaranya meninggal.^{5,6} *Escherichia coli* adalah bakteri Gram-negatif, berbentuk basil yang tidak membentuk spora dan bersifat fakultatif anaerob.² *Escherichia coli* juga merupakan flora normal yang terdapat pada usus besar manusia untuk mencegah kolonisasi bakteri patogen.⁷ Namun, terdapat beberapa jenis *Escherichia coli* yang bisa menyebabkan penyakit pada usus dan ekstraintestinal pada manusia, seperti peritonitis, infeksi saluran kemih, dan terutama diare.^{2,8}

Salah satu tatalaksana untuk diare yang disebabkan *Escherichia coli* adalah antibiotik, seperti siprofloksasin.⁹ Namun, sekarang sudah semakin banyak kejadian resistensi pada antibiotik. Menurut penelitian sebelumnya, *Escherichia coli*

telah mengalami resistensi pada lebih dari 6 jenis antibiotik, seperti carbapenem, penisilin, aminoglikosida, dan lainnya.¹⁰ Oleh karena itu, diperlukan terapi alternatif untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli*. Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati dan juga kaya akan tumbuhan obat, di mana 300 jenisnya telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional.¹¹ Obat tradisional, seperti jeruk sambal yang mudah ditemukan dalam kehidupan sehari-hari. Jeruk sambal atau *Citrus microcarpa* Bunge banyak ditemukan di India, Asia Selatan dan Asia Tenggara, seperti Malaysia dan Indonesia, khususnya dikenal luas oleh masyarakat Kalimantan Barat.^{12, 13}

Jeruk sambal merupakan buah segar yang rasanya asam, airnya sering dikonsumsi karena kaya akan vitamin C (41.6 mg/100 g), dan digunakan sebagai bumbu masakan.^{12,14} Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa air perasan jeruk sambal mengandung asam sitrat dan asam malat yang hanya terdapat dalam air perasannya. Selain itu, air perasannya juga mengandung linalool, α -terpineol, dan limonene yang termasuk dalam golongan minyak atsiri, dan beberapa senyawa yang termasuk dalam golongan asam fenolik, seperti asam ferulat, asam sinapic, asam kafeat, dan asam P-kumarat, serta flavonoid sebanyak 10,958 mg/ml QE yang memiliki potensi sebagai antibakteri, termasuk terhadap *Escherichia coli*.¹⁵⁻²¹

Potensi perasan air jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) sebagai antibakteri akan diuji dalam penelitian ini. Selain itu hingga sekarang, belum dilakukan uji aktivitas air perasan jeruk sambal sebagai antibakteri pada *Escherichia coli*. Jeruk sambal yang akan diteliti, diambil dari salah satu perkebunan yang terletak di Kabupaten Kubu Raya

tepatnya di Desa Kalimas yang memiliki jenis tanah aluvial yang berbeda dengan jenis tanah pada daerah lain. Berdasarkan hal yang telah disebutkan sebelumnya, peneliti merasa tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas air perasan jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

METODE

Desain penelitian yang digunakan ialah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*.

Pengambilan dan Persiapan Air Perasan Jeruk Sambal

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jeruk sambal yang diambil di Jalan Kalimas Tengah, Desa Kalimas, Kuburaya, Kalimantan Barat. Buah jeruk sambal yang digunakan ialah buah yang sudah matang yang berwarna hijau kekuningan dan dipetik langsung dari pohonnya. Jeruk sambal dibersihkan dengan air mengalir hingga bersih, kemudian dikeringkan. Jeruk sambal disterilisasi dengan alkohol 70% dan dipotong menjadi dua bagian. Setelah itu, setiap potongan jeruk sambal diperas secara manual menggunakan tangan yang telah memakai sarung tangan, air perasan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer lalu disaring dengan menggunakan kertas saring yang telah disterilkan.²² Variasi konsentrasi air perasan jeruk sambal yang akan digunakan adalah 25%, 50%, 75%, dan 100%. Pembuatan konsentrasi menggunakan rumus pengenceran:²³ $V1 \times M1 = V2 \times M2$. Konsentrasi 25% diberi perasan jeruk sambal 2.5 ml + akuades steril 7.5 ml, konsentrasi 50% diberi perasan jeruk sambal 5 ml + akuades steril

5 ml, konsentrasi 75% diberi perasan jeruk sambal 7.5 ml + akuades steril 2.5 ml, konsentrasi 100% diberi perasan jeruk sambal 10 ml.²⁴

Analisis Fitokimia

Analisis metabolit senyawa sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid, fenol, dan tanin pada air perasan jeruk sambal dilakukan secara kualitatif.

1. Uji Alkaloid

Pengujian alkaloid dilakukan dengan mencampurkan 2 mL HCl 2 N ke dalam 5 mL air perasan jeruk sambal. Kemudian masukkan masing-masing 1 mL air perasan ke dalam 3 tabung reaksi. Masing-masing tabung ditetaskan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Pengujian dengan reagen Mayer dikatakan positif bila terbentuk endapan putih/kuning. Hasil positif dengan reagen Wagner ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat kemerahan. Munculnya endapan jingga atau coklat menunjukkan Hasil positif untuk reagen Dragendorff.²⁵

Uji Flavonoid

Flavonoid diuji dengan mencampurkan HCl pekat dan serbuk Magnesium (Mg) ke 5 mL dalam air perasan. Hasil positif pada flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning tua atau jingga.²⁶

2. Uji Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan mencampurkan 5 mL air panas ke dalam 2 mL air perasan jeruk sambal dan dikocok selama 1 menit. Jika terbentuk busa maka dikatakan positif.²⁷

3. Uji Terpenoid

Pengujian terpenoid dilakukan dengan mencampurkan 3 mL air perasan jeruk sambal ke dalam 1 mL larutan kloroform dan 1,5 mL larutan H₂SO₄. Jika terjadi perubahan warna menjadi coklat kemerahan maka menunjukkan hasil positif.²⁷

4. Uji Steroid

Pengujian steroid dilakukan dengan mencampurkan 2 mL larutan kloroform dan 2 mL larutan H₂SO₄ ke dalam 2 mL air perasan jeruk sambal hingga homogen. Jika terjadi perubahan warna menjadi merah dan fluoresensi hijau kekuningan maka menunjukkan hasil positif.²⁷

Uji Fenolik

Pengujian fenolik dengan metode FeCl₃, dilakukan dengan mencampurkan 5 mL larutan FeCl₃ 5% kedalam 5 mL air perasan. Jika terdapat perubahan warna menjadi hijau gelap maka menunjukkan hasil positif.²⁷

5. Uji Tanin

Pengujian tanin dengan metode *Ferric Chloride test*, dilakukan dengan meneteskan beberapa tetes larutan FeCl₃ 5%. Ke dalam 5 mL air perasan. Jika terdapat perubahan warna menjadi hitam atau biru kehijauan maka dinyatakan positif.^{28,29}

Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Bakteri hasil uji peremajaan 24 jam disuspensikan menggunakan ose ke dalam 5 mL larutan NaCl 0,9% pada tabung reaksi dan dihomogenkan. Kemudian, kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan secara visual dengan larutan standar McFarland

0,5 yang setara dengan pertumbuhan 1-2 x 10⁸ CFU/mL.³⁰

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri jeruk sambal terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan metode *disc diffusion* (Kirby - Bauer) dengan menggunakan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) sesuai standard EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Pertama-tama, suspensi bakteri diinokulasikan pada permukaan media MHA dengan metode apus (swab) menggunakan lidi kapas steril. Apusan dilakukan secara merata dari atas ke bawah kemudian putar cawan petri sekitar 60° searah jarum jam, langkah tersebut diulangi sebanyak 3 kali.³¹ Masing-masing kertas cakram direndam selama 7 menit ke dalam sampel air perasan jeruk sambal dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.^{32,33}

Kontrol positif yang digunakan ialah siprofloksasin 5 µg/disk, sedangkan kontrol negatif yang digunakan ialah akuades steril. Kertas cakram yang telah mengandung sampel, kontrol positif, dan kontrol negatif diletakkan di atas kultur bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media MHA.²³ Kemudian media MHA diinkubasi dalam suhu 35°C selama 24 jam.³⁴ Kemudian diamati ada tidaknya zona hambat atau zona jernih yang terbentuk. Pengukuran diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong. Data diameter zona hambat diambil dari tiga sisi yang berbeda dan dihitung nilai rata-ratanya.²³

Analisis data yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri air perasan jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* adalah uji statistika analisis varian satu

arah (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Pengujian diawali dengan uji normalitas *Shapiro-wilk*. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas, yaitu dengan uji Levene. Apabila uji normalitas dan uji homogenitas memiliki nilai hitung yang signifikan atau terdapat perbedaan yang nyata maka dapat dilanjutkan dengan analisis varian satu arah (ANOVA). Untuk dapat mengetahui signifikansi perbedaan dari data satu kelompok perlakuan air perasan jeruk sambal dengan kelompok lainnya maka dilanjutkan dengan *Post Hoc Least Significant Difference (LSD)*. Analisis data dilakukan melalui aplikasi SPSS Statistics versi 25.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia metabolit sekunder air perasan jeruk sambal dilakukan dengan metode kualitatif di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Air Perasan Jeruk Sambal

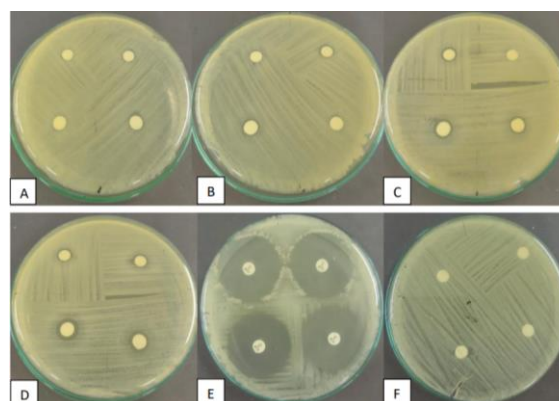
Parameter uji	Hasil
Alkaloid (mayer)	+
Alkaloid (wagner)	+
Alkaloid (dragendroff)	++
Flavonoid (Mg + HCl)	+
Saponin	+++
Terpenoid	-
Steroid	-
Tanin	+
Fenolik	+

Keterangan: (-) tidak mengandung, (+) kadar rendah, (++) kadar cukup, (+++) kadar tinggi

Berdasarkan skrining fitokimia yang telah dilaksanakan sebelumnya, diketahui bahwa air perasan jeruk sambal mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenolik. Hal ini didukung oleh

studi fitokimia yang pernah dilakukan bahwa air perasan jeruk sambal mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, dan tanin.^{16,17} Selain itu, hasil skrining fitokimia juga menunjukkan bahwa air perasan jeruk sambal yang berasal dari Kuburaya ternyata juga mengandung alkaloid dan saponin yang belum ditemukan pada air perasan jeruk sambal daerah lain. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Uji aktivitas antibakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dengan menggunakan metode difusi cakram. Pada pengujian aktivitas antibakteri terdapat 6 kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi air perasan jeruk sambal 25%, 50%, 75%, 100%, kontrol negatif (akuades steril), dan kontrol positif (siprofloksasin) yang diujikan pada media MHA yang telah diinokulasi dengan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Hasil uji aktivitas air perasan jeruk sambal terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi air perasa jeruk sambal (A) 25%; (B) 50%; (C) 75%; (D) 100%; (E) kontrol negatif; (F) kontrol positif.

100%; (E) Kontrol positif (Siprofloksasin);
(F) Kontrol negatif

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Air Perasan Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*

No	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)				Diameter mean (mm)	SD
		Pengulangan ke-					
		I	II	III	IV		
1	25%	7,73	7,07	0	0	3,70	2,140
2	50%	6,93	8,53	7,17	8,3	7,73	0,399
3	75%	6,5	8,13	8,87	8,23	7,93	0,504
4	100%	8,3	8,37	10	10,47	9,28	0,556
5	Kontrol (+)	31,53	32,28	31,63	31,7	31,78	0.1686
6	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0

Media yang telah diberikan perlakuan air perasan jeruk sambal 25%, 50%, 75%, 100%, dan kontrol positif menunjukkan adanya zona bening pada sekitar kertas cakram yang menandakan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona bening pada sekitar kertas cakram yang menandakan tidak adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Rata-rata diameter zona hambat air perasan jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, dan kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah 3,70 mm, 7,73 mm, 7,93 mm, 9,28 mm, dan 31,78 mm. Sedangkan, kontrol negatif menunjukkan zona hambat sebesar 0 mm. Pada hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka zona hambat yang terbentuk juga semakin besar. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi maka kandungan senyawa antibakteri yang terkandung dalam air perasan juga semakin meningkat sehingga mempermudah penetrasi zat

dalam menghambat pertumbuhan bakteri.²¹

Data hasil penelitian yang sudah didapat dilakukan uji statistik. Uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas, yang menyatakan bahwa data tidak homogen, dengan nilai signifikansi 0,000 ($p > 0,05$). Setelah itu, dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* yang diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menyatakan bahwa air perasan jeruk sambal terdapat pengaruh dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Oleh karena data yang diuji tidak homogen maka dilaksanakan uji pembandingan dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*.

Pada pengujian *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikansi 0,002 ($p < 0,05$) yang memperlihatkan bahwa konsentrasi air perasan jeruk sambal berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Selanjutnya, dilakukan uji *Post Hoc* LSD untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan air perasan jeruk sambal. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc* LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan

signifikan antar kelompok, yaitu pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol negatif dan kontrol

positif, serta terdapat perbedaan signifikan pada kelompok konsentrasi 25% terhadap kelompok konsentrasi 50%, 75%, dan 100% (Tabel 3).

Tabel 3. Uji Statistik *Post-Hoc LSD*

	K. 50%	K. 75%	K. 100%	Kontrol (+)	Kontrol (-)
K. 25%	0,007*	0,005*	0,001*	0,000*	0,012*
K. 50%		0,882	0,260	0,000*	0,000*
K. 75%			0,324	0,000*	0,000*
K. 100%				0,000*	0,000*
Kontrol (+)					0,000*

*berbeda signifikan bila ($p < 0.05$)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan air perasan jeruk sambal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia, seperti diare dan infeksi saluran kemih.^{2,8} Pada hasil uji aktivitas antibakteri air perasan jeruk sambal dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% menunjukkan adanya zona hambat. Hal ini disebabkan karena adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam air perasan jeruk sambal, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, dan tanin yang memiliki potensi sebagai antibakteri.

Senyawa alkaloid mempunyai kemampuan antibakteri yang bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri yang mengakibatkan lapisan dinding sel tidak terbentuk sepenuhnya, sehingga mengakibatkan kematian sel, serta menghambat enzim topoisomerase pada sel bakteri.³⁵ Senyawa flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri dan menghambat proses metabolisme energi pada sel bakteri dengan menghambat sistem respirasi pada sel bakteri.³⁶ Senyawa saponin yang juga

merupakan metabolit sekunder paling dominan pada air perasan jeruk sambal memiliki potensi sebagai antibakteri yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein. Dikarenakan zat aktif permukaan saponin mirip deterjen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan meningkatkan permeabilitas dinding sel dengan berikatan dengan polisakarida sehingga ketika terjadi interaksi maka dinding sel akan lisis dan zat antibakteri dapat masuk kedalam sel dengan mudah dan mengganggu metabolisme bakteri sehingga terjadi kematian bakteri.^{35,37} Fenol bekerja dengan mengganggu dinding sel, mengkoagulasi protein sehingga membran sel lisis, dan mengikat genom DNA agar fungsi sel terhambat.³⁸ Mekanisme senyawa tanin sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu DNA topoisomerase dan enzim *reverse transcriptase* sehingga tidak terbentuk sel bakteri. Selain itu, tanin juga dapat menginaktivasi *adhesion* sel mikroba dan enzim, serta menghambat transport protein lapisan dalam sel.³⁹ Tanin juga memiliki kemampuan untuk melewati dinding sel bakteri hingga ke membran internal, mengganggu metabolisme sel dan mengakibatkan kehancuran sel bakteri.⁴⁰

Kelompok kontrol positif yang menggunakan siprofloksasin 5 µg/disk menunjukkan adanya zona hambat dengan diameter rata-rata sebesar 31,78 mm dengan interpretasi sensitif sesuai standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon, yang bekerja dengan menghambat replikasi DNA yang akan berikatan dengan DNA *gyrase* (topoisomerase II) dan DNA topoisomerase IV.⁴¹ Sedangkan, pada kontrol negatif menggunakan akuades steril dan tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Akuades steril digunakan sebagai kontrol negatif dikarenakan akuades steril yang digunakan untuk pembuatan pengenceran saat pembuatan variasi konsentrasi larutan uji dan merupakan senyawa netral yang tidak memiliki efek terhadap pertumbuhan bakteri. Hal tersebut dibuktikan dengan tidak adanya respon menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.⁴²

SIMPULAN

Berlandaskan hasil penelitian hubungan karakteristik ibu terhadap stunting pada balita usia 2-5 tahun di Puskesmas Manutapen, dapat disimpulkan bahwa umur ibu ($p=0,146$, $OR=2,364$), pekerjaan ibu ($p=0,461$, $OR=0,429$), dan tingkat pendidikan ibu ($p=0,242$, $OR=0,500$), ASI eksklusif ($p=0,477$, $OR=0,600$) dan akses sanitasi dasar ($p=1,000$, $OR=1,4$) tidak berhubungan secara signifikan dengan kejadian stunting pada balita usia 2-5 tahun di Puskesmas Manutapen tahun 2021.

DUKUNGAN FINANSIAL

Tidak ada.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak ada.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada.

DAFTAR PUSTAKA

1. UNICEF, WHO, World Bank Group Joint Child Malnutrition. Levels and trends in child malnutrition: Key findings of the 2020 Edition of the Joint Child Malnutrition Estimates. [Internet]. Vol. 24, Geneva: WHO. 2020. p. 1–16. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/jme-2020-edition>.
2. UNICEF. Improving child nutrition. [Internet]. Vol. 18, Unicef. 2013. p. 1–2. Available from: www.unicef.org/publications/index.html.
3. United Nations Integrated Children's Emergency Fund (UNICEF), World Health Organization (WHO), World Bank Group. UNICEF/WHO/World Bank Group Joint Child Malnutrition Estimates. 2018; Available from: <https://data.unicef.org/wp-content/uploads/2018/05/JME-2018-brochure-web.pdf>.
4. UNICEF Indonesia. Children in Indonesia | UNICEF Indonesia [Internet]. 2020 [cited 2021 May 15]. Available from: <https://www.unicef.org/indonesia/children-indonesia>.
5. Kemenkes RI. Riset Kesehatan Dasar Nasional [Internet]. Kementerian Kesehatan RI. 2018. Available from: file:///D:/save_gdrive/SKRIPSI/stunting/Jurnal_skrripsi_stunting_untuk_PKM/ANGELA_PKM/FILE_PKM/REFERENSI/BAB

- I/HASIL RISKESDAS 2018.pdf.
6. Kemenkes RI. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan [Internet]. Kementerian Kesehatan RI. 2018. p. 56. Available from: www.pusdatin.kemkes.go.id.
 7. WHO. Childhood Stunting: Context, Causes and Consequences WHO Conceptual Framework. Who. 2013;9(2):27–45.
 8. Fajrina N, Syaifudin. Hubungan Faktor Ibu Dengan Kejadian Stunting Pada Balita Di Puskesmas Piyungan Kabupaten Bantul. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. 2016;10.
 9. Muniroh L. Hubungan tingkat pendidikan, tingkat pengetahuan dan pola asuh ibu dengan. :84–90.
 10. Lestari S, Fujiati II, Keumalasari D, Daulay M. The prevalence and risk factors of stunting among primary school children in North Sumatera , Indonesia The prevalence and risk factors of stunting among primary school children in North Sumatera , Indonesia. 2018.
 11. Dinas Kesehatan Kota Kupang. Profil Kesehatan Kota Kupang Tahun 2018. Profil kesehatan kota kupang tahun 2018 [Internet]. 2018;(0380):19–21. Available from: <https://dinkes-kotakupang.web.id/bank-data/category/1-profil-kesehatan.html?download=36:profil-kesehatan-tahun-2018>.
 12. Sumardilah DS, Rahmadi A. Risiko Stunting Anak Baduta (7-24 bulan). Jurnal Kesehatan. 2019;10(1):93.
 13. Agustiningrum T, Rokhanawati D. Hubungan Karakteristik Ibu Dengan Kejadian Stunting Pada Balita Usia 24-59 Bulan di Wilayah Kerja Puskesmas Wonosari I. 2016;9(1):55–60.
 14. Astuti DK, Studi P, Gizi I, Kesehatan FI, Surakarta UM. Hubungan karakteristik ibu dan pola asuh gizi dengan kejadian balita. 2016.
 15. Siregar SH, Siagian A. Hubungan Karakteristik Keluarga dengan Kejadian Stunting pada Anak 6–24 bulan di Kabupaten Langkat. Tropical Public Health Journal. 2021;1(1):1–8.
 16. Mentari S, Hermansyah A. Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Status Stunting Anak Usia 24-59 Bulan Di Wilayah Kerja Upk Puskesmas Siantan Hulu. Pontianak Nutrition Journal (PNJ). 2018;1(1):1.
 17. Apriani L, Gizi J, Masyarakat K, Semarang U. Hubungan Karakteristik Ibu. Pelaksanaan Keluar Sadar Gizi (KADARZI) dan Perilaku Hidup Bersih Sehat (PHBS) Dengan Stunting. 2018;6.
 18. Savita R, Amelia F. Hubungan Pekerjaan Ibu, Jenis Kelamin, dan Pemberian ASI Eksklusif Terhadap Kejadian Stunting Pada Balita 6-59 Bulan di Bangka Selatan. Jurnal Kesehatan Poltekkes Kemenkes Ri Pangkalpinang. 2020;8(1):1.
 19. Rahmawati D, Agustin L. Hubungan Tingkat Pendidikan Ibu Dan Pemberian Informasi Tentang Stunting Dengan Kejadian Stunting (Relationship of Mother'S Level of Education and Providing Information About Stunting With Stunting Events. 2020;9(1):80–5.
 20. Setiawan E, Machmud R. Artikel Penelitian Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Stunting pada Anak Usia 24-59 Bulan di Wilayah Kerja Puskesmas Andalas Kecamatan Padang Timur Kota Padang Tahun 2018. 2018;7(2):275–84.
 21. Sari DR, Fatmaningrum W, Suryawan A. Hubungan Etnis, ASI Eksklusif, dan Berat Badan Lahir Dengan Stunting Pada Balita Usia 12-59 Bulan di Surabaya. 2019;3(4):320–30.
 22. Nova M, Afriyanti O. Hubungan Berat

- Badan, Asi Eksklusif, Mp-Asi Dan Asupan Energi Dengan Stunting Pada Balita Usia 24–59 Bulan Di Puskesmas Lubuk Buaya. *JURNAL KESEHATAN PERINTIS (Perintis's Health Journal)*. 2018;5(1):39–45.
23. Sr A, Sampe SA. Hubungan Pemberian ASI Eksklusif Dengan Kejadian Stunting Pada Balita Relationship between Exclusive Breastfeeding and Stunting in Toddlers. Juni [Internet]. 2020;11(1):448–55. Available from: <https://akper-sandikarsa.e-journal.id/JIKSH>.
24. Latifah AM, Purwanti LE, Sukamnto FI. Hubungan Pemberian ASI Eksklusif Dengan Kejadian Stunting Pada Balita 1-5 Tahun. *Health Sciences Journal*. 2020;4(1).
25. Sumarni S, Oktavianisya N, Suprayitno E. Pemberian Air Susu Ibu Eksklusif Berhubungan dengan Kejadian Stunting pada Balita di Pulau Mandangin Kabupaten Sumenep Provinsi Jawa Timur. *Jurnal Riset Hesti Medan Akper Kesdam I/BB Medan*. 2020;5(1):39–43.
26. Paramashanti BA, Hadi H, Gunawan IMA. Pemberian ASI eksklusif tidak berhubungan dengan stunting pada anak usia 6–23 bulan di Indonesia. *Jurnal Gizi dan Dietetik Indonesia (Indonesian Journal of Nutrition and Dietetics)*. 2016;3(3):162.
27. Bella FD, Fajar NA, Misnaniarti M. Hubungan pola asuh dengan kejadian stunting balita dari keluarga miskin di Kota Palembang. *Jurnal Gizi Indonesia*. 2019;8(1):31.
28. Noorhasanah E, Tauhidah NI. Hubungan Pola Asuh Ibu dengan Kejadian Stunting Anak Usia 12-59 Bulan. *Jurnal Ilmu Keperawatan Anak*. 2021;4(1):37–42.
29. Torlesse H, Cronin AA, Sebayang SK, Nandy R. Determinants of stunting in Indonesian children: Evidence from a cross-sectional survey indicate a prominent role for the water, sanitation and hygiene sector in stunting reduction. *BMC Public Health [Internet]*. 2016;16(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12889-016-3339-8>.
30. Hasan A, Kadarusman H. Akses ke Sarana Sanitasi Dasar sebagai Faktor Risiko Kejadian Stunting pada Balita Usia 6-59 Bulan. *Jurnal Kesehatan*. 2019;10(3):413.
31. Desyanti C, Nindya TS. Hubungan Riwayat Penyakit Diare dan Praktik Higiene dengan Kejadian Stunting pada Balita Usia 24-59 Bulan di Wilayah Kerja Puskesmas Simolawang, Surabaya. *Amerta Nutrition*. 2017;1(3):243.
32. Dewi NT, Widari D. Hubungan Berat Badan Lahir Rendah dan Penyakit Infeksi dengan Kejadian Stunting pada Baduta di Desa Maron Kidul Kecamatan Maron Kabupaten Probolinggo. *Amerta Nutrition*. 2018;2(4):373.
33. Depkes RI. Pedoman Pembinaan dan Pelatihan Perilaku Hidup Bersih dan Sehat (PHBS) di Rumah Tangga melalui Tim Penggerak PKK. 2011.
34. Aprizah A. Hubungan karakteristik Ibu dan Perilaku Hidup Bersih Sehat (PHBS) Tatanan Rumah Tangga Dengan Stunting. 2021;4:115–23.

