STUDI POTENSI ANTIBAKTERI KOMBINASI CANGKANG TELUR AYAM DAN KULIT BIJI METE (*Anacardium occidentale* L.) TERHADAP BAKTERI PENGHASIL ESBL DENGAN *CHECKERBOARD ASSAY*

SKRIPSI

OLEH :

FERNANDA AISYA VENTURINI

NIM. I1021221029

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2026

STUDI POTENSI ANTIBAKTERI KOMBINASI CANGKANG TELUR AYAM DAN KULIT BIJI METE (*Anacardium occidentale* L.) TERHADAP BAKTERI PENGHASIL ESBL DENGAN *CHECKERBOARD ASSAY*

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak

OLEH :

FERNANDA AISYA VENTURINI

NIM. I1021221029

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2026

SKRIPSI
STUDI POTENSI ANTIBAKTERI KOMBINASI CANGKANG TELUR AYAM DAN KULIT BIJI METE (*Anacardium occidentale* L.) TERHADAP BAKTERI PENGHASIL ESBL DENGAN CHECKERBOARD ASSAY OLEH:
FERNANDA AISYA VENTURINI
NIM. I1021221029

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal: 7 April 2026

Disetujui,

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Dr. Hariyanto IH, M.Si., Apt	Dr. Inarah Fajriaty, M.Si., Apt
NIP. 198501062009121009	NIP. 198004072009122002
Penguji Utama,	**Penguji Pendamping,**
Nera Umilia Purwanti, M. Sc., Apt	Ressi Susanti, M.Sc., Apt
NIP. 198102242008122003	NIP. 198003242008122002

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

dr. Ita Armyanti, M.Pd., Ked
NIP. 198110042008012011

Lulus Tanggal : 7 April 2026
No. SK Dekan FK : 2921/DST/UN22.9/DT.00.10/2026
Tanggal SK : 8 Juni 2026

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fernanda Aisya Venturini

NIM : I1021221029

Jurusan/Prodi : Farmasi

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

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Pontianak, 7April 2026

Yang Membuat Pernyataan,



Fernanda Aisya Venturini

NIM. I1021221029

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul "Studi Potensi Antibakteri Kombinasi Cangkang Telur Ayam dan Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap Bakteri Penghasil ESBL dengan *Checkerboard Assay*" dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan bimbingan, dukungan dan bantuan.

1. dr. Ita Armyanti, M.Pd. Ked. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
2. Dr. Bambang Wijianto, M.Sc., Apt. selaku Kepala Bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
3. Nera Umilia Purwanti, M. Sc., Apt, selaku Koordinator Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak dan Penguji Utama yang telah memberikan saran dan masukan yang bermanfaat untuk naskah skripsi saya.
4. Dr. Hariyanto IH, M.Si., Apt selaku Pembimbing Utama dan Dr. Inarah Fajriaty, M.Si., Apt. selaku Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, ilmu, saran serta perhatian selama penyusunan skripsi saya.

5. Ressi Susanti, M.Sc., Apt selaku Penguji Pendamping yang telah memberikan saran dan masukan yang bermanfaat untuk penulis pada naskah skripsi saya dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah berkenan memberikan nasehat dan masukan selama masa perkuliahan.
6. Seluruh civitas akademik Fakultas Kedokteran khususnya kepada dosen farmasi yang mengajarkan ilmu kefarmasian, memberi nasihat dan mendukung penulis untuk menyelesaikan sarjana Farmasi.
7. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa, motivasi dan semangat untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi saya.
8. Teman-teman penelitian yang telah bekerja sama dan saling mendukung selama masa penelitian.
9. Teman-teman perkuliahan A2 terutama teman terdekat saya yang telah membantu dan memberikan saya dukungan selama perkuliahan dan penelitian.
10. Teman-teman jauh saya yang telah menemani saya hingga pagi dan memberi dukungan moral secara daring selama saya menulis tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan naskah skripsi ini masih jauh dari sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Demikian skripsi ini dibuat semoga dapat bermanfaat.

Pontianak, 7 April 2026



Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN SAMPUL i

HALAMAN PENGESAHAN ii

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iii

KATA PENGANTAR iv

DAFTAR ISI vi

DAFTAR TABEL xi

DAFTAR GAMBAR xii

DAFTAR SINGKATAN xiv

DAFTAR LAMPIRAN xv

ABSTRAK xvi

ABSTRACT xvii

BAB I PENDAHULUAN 1

I.1 Latar belakang 1

I.2 Rumusan masalah 3

I.3 Tujuan penelitian 3

I.4 Manfaat penelitian 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4

II.1 Cangkang telur ayam 4

II.2 Kulit biji mete 5

II.3 Bakteri 8

II.3.1 *Klebsiella pneumonia* 8

II.4 Antibiotik 10

II.4.1 Mekanisme kerja antibiotik 10

II.4.2 Mekanisme resistensi antibiotik 12

II.6 *Molecular docking* 13

II.7 Uji aktivitas antibakteri 13

II.7.1 Difusi sumuran 13

II.7.2 Dilusi *broth* 14

II.7.3 *Checkerboard* 15

II.8 Landasan teori 16

II.9 Kerangka konsep 18

II.10 Hipotesis penelitian 19

BAB III METODOLOGI 20

III. 1 Alat dan bahan 20

III.1.1 Alat 20

III.1.2 Bahan.....21

III.2 Bakteri.....21

III.3 Prosedur penelitian.....21

III.3.1 Tempat dan waktu penelitian.....21

III.3.2 Pengajuan etik.....21

III.3.3 Variabel penelitian.....22

III.4 Persiapan sampel.....22

III.5 Uji *in silico*.....23

III.5.1 Preparasi struktur ligan.....23

III.5.2 Preparasi prote in.....23

III.5.3 *Molecular docking*.....23

III.6 Uji *in vitro*.....24

III.6.1 Sterilisasi alat dan bahan.....24

III.6.2 Pembuatan media.....24

III.6.3 Preparasi bakteri uji.....24

III.6.4 Pembuatan larutan kontrol positif dan larutan uji.....25

III.6.5 Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran.....25

III.6.6 Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi.....27

III.6.7 Pengujian aktivitas antibakteri dengan *checkerboard assay* 28

III.6.8 Pengolahan limbah.....30

III.8 Analisis data 30

III.8 Alur penelitian.....34

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....35

IV.1 *In Silico*.....35

IV.1.1 Preparasi struktur ligan.....36

IV.1.2 Preparasi reseptor 39

IV.1.3 Validasi metode *molecular docking*.....41

IV.1.4 *Docking* ligan terhadap reseptor.....42

IV.2 *In vitro* 52

IV.2.1 Kaji Etik 52

IV.2.1 Sumber dan prosedur perolehan sampel.....52

IV.2.2 Evaluasi aktivitas antibakteri ekstrak tunggal 53

IV.2.4 Pengujian aktivitas antibakteri terhadap ekstrak kombinasi 61

IV.4 Prediksi mekanisme kerja antibakteri kombinasi 64

IV.5 Hubungan antara metode penelitian 67

BAB V PENUTUP.....70

V.1 Kesimpulan 70

V.2 Saran 70

DAFTAR PUSTAKA 71

LAMPIRAN 87

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

Tabel 3.1 Interpretasi koefisien korelasi 33

Tabel 4.1 Hasil penentuan fisikokimia ligan.....37

Tabel 4.2 Hasil preparasi struktur ligan uji 38

Tabel 4.3. Hasil preparasi reseptor.....40

Tabel 4.4 Hasil *redocking* ligan alami-reseptor enzim betalaktamase dan PBP3 ..42

Tabel 4.5 Hasil *docking* ligan-reseptor enzim betalaktamase dan PBP3 44

Tabel 4.6 Hasil preparasi dan karakterisasi fisikokimia.....53

Tabel 4.7 Diameter zona hambat CTAP dan KBM terhadap bakteri uji.....55

Tabel 4.8 Nilai MIC CTAP dan KBM terhadap bakteri uji.....58

Tabel 4.9 Hasil *checkerboard assay* CTAP dan KBM terhadap bakteri uji.....61

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

Gambar 2.1 Struktur telur 4

Gambar 2.2 Pohon, buah, dan biji jambu mete 6

Gambar 2.3 Struktur asam anakardat, kardol, dan kardanol 7

Gambar 2.4 Isolat *K.pneumoniae* di bawah *scanning electron microscopy* 9

Gambar 2.5 Mekanisme kerja antibiotik 10

Gambar 2.6 Mekanisme kerja antibiotik sintesis protein bakteri 11

Gambar 2.7 Mekanisme kerja antibiotik 12

Gambar 2.8 Metode difusi sumuran 14

Gambar 2.9 Metode dilusi *broth* 15

Gambar 3.1 Ilustrasi rancangan uji antibakteri metode difusi sumuran 26

Gambar 3.2 Ilustrasi hasil uji mikrodilusi pada mikroplat 96 sumur 27

Gambar 3.3 Pengenceran larutan serbuk CTAP pada mikroplat 96 sumur 28

Gambar 3.4 Pengenceran larutan ekstrak kental KBM pada mikroplat 29

Gambar 3.5 Ilustrasi *checkerboard assay* pada mikroplat 96 sumur 29

Gambar 3.6 Matriks kombinasi konsentrasi pada kelipatan MIC 30

Gambar 3.7 Pengukuran zona hambat 32

Gambar 3.8 Alur penelitian 36

Gambar 4.1 Visualisasi 3d ligan-reseptor enzim betalaktamase dan PBP3 48

Gambar 4.2 Pengujian zona hambat CTAP dan KBM terhadap bakteri uji 54

Gambar 4.3 Perbandingan diameter zona hambat CTAP dan KBM 56

Gambar 4.4 *Minimum inhibition concentration* CTAP dan KBM 59

Gambar 4.5 Pengujian *checkerboard assay* terhadap kombinasi.....62

Gambar 4.6 Prediksi mekanisme kerja antibakteri kombinasi.....65

Gambar 4.7 Korelasi *pearson* antar metode uji 67

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: *Analysis of Variance*
CaCO3	: Kalsium Karbonat
CaO	: Kalsium Oksida
CNSL	: *Cashew Nut Shell Liquid*
CPS	: Polisakarida Kapsul
CTA	: Cangkang Telur Ayam
CTAP	: Cangkang Telur Ayam setelah Pemanasan
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
FICI	: *Fractional Inhibitory Concentration Index*
KBM	: Kulit Biji Mete
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimum
LPS	: Lipopolisakarida
MDR	: *Multidrug-Resistant*
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
OMP	: *Outer Membrane Protein*
PBP	: *Penicillin Binding Protein*
RMSD	: *Root Mean Square Deviation*
SDGs	: *Sustainable Development Goals*
SPSS	: *Statistical Product and Service Solution*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

Lampiran 1. Determinasi tanaman 87

Lampiran 2. Surat kaji etik 88

Lampiran 3. *Certificate of Analysis* bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 89

Lampiran 4. *Certificate of Analysis* indikator resazurin 90

Lampiran 5. *Certificate of Analysis* gliserol 91

Lampiran 6. Lampiran perhitungan seri konsentrasi *checkerboard assay* 92

Lampiran 7. Matriks kombinasi konsentrasi cangkang telur ayam 92

Lampiran 8. Perhitungan FICI 93

Lampiran 9. Titik pusat dan ukuran kotak *grid* ligan alami 93

Lampiran 10. Hasil pengamatan pengujian zona hambat metode sumuran 93

Lampiran 11. Hasil pengamatan mikrodilusi 94

Lampiran 12. Hasil pengamatan *checkerboard assay* 95

ABSTRAK

Meningkatnya prevalensi bakteri *multidrug-resistant* (MDR), khususnya penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) pada bakteri gram negatif, mendorong pencarian alternatif antibakteri berbasis bahan alam dan limbah hayati. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi antibakteri kombinasi cangkang telur ayam (CTAP) dan ekstrak etanol 96% kulit biji mete (KBM) terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 non-ESBL dan ATCC 700603 penghasil ESBL melalui pendekatan *in silico* dan *in vitro*. Pendekatan *in silico* dilakukan menggunakan *molecular docking* ligan CaO, ginkgol, dan *m*-cresol terhadap reseptor enzim betalaktamase (PDB: 2ZD8) dan *penicillin binding protein* 3 (PDB: 8GPW). Uji *in vitro* dilakukan dengan metode difusi sumuran, mikrodilusi, dan *checkerboard assay*. Hasil *in silico* menunjukkan ginkgol memiliki performa paling konsisten pada kedua reseptor dengan afinitas pengikatan terbaik, diikuti *m*-cresol dengan interaksi lebih sederhana, sedangkan CaO menunjukkan afinitas rendah dan kurang stabil. Hasil *in vitro* menunjukkan CTAP 50% menghasilkan zona hambat terbesar, sedangkan KBM hanya aktif pada konsentrasi 25%. Nilai MIC CTAP sebesar 8192 µg/mL pada kedua strain, sementara KBM sebesar 8192 µg/mL dan 16384 µg/mL masing-masing terhadap strain non-ESBL dan ESBL. Nilai FICI sebesar 2 menunjukkan interaksi indiferen. Secara keseluruhan, hasil menunjukkan bahwa afinitas molekuler yang baik tidak selalu sejalan dengan efektivitas biologis. Rendahnya aktivitas KBM diduga dipengaruhi faktor kelarutan, stabilitas, dan konsentrasi senyawa aktif, sedangkan aktivitas CTAP yang moderat kemungkinan melalui mekanisme non-spesifik seperti peningkatan pH dan gangguan membran.

Kata Kunci: Antibakteri, Cangkang telur ayam, *Checkerboard*, ESBL, Kulit biji mete.

ABSTRACT

The increasing prevalence of multidrug-resistant (MDR) bacteria, particularly Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-producing, has driven the search for alternative antibacterial agents. This study aimed to evaluate the antibacterial potential of a combination of chicken eggshells (CTAP) and 96% ethanol extract of cashew nut shell (KBM) against Klebsiella pneumoniae ATCC 13883 (non-ESBL) and ATCC 700603 (ESBL-producing) using both in silico and in vitro approaches. The in silico analysis was conducted using molecular docking of CaO, ginkgol, and m-cresol against β-lactamase (PDB: 2ZD8) and penicillin-binding protein 3 (PDB: 8GPW). The in vitro assays included agar well diffusion, microdilution, and checkerboard methods. The in silico results demonstrated that ginkgol exhibited the most consistent performance across both receptors, with the best binding affinity. m-Cresol showed moderate potential with simpler interaction patterns, while CaO displayed low affinity and poor stability. The in vitro results showed that CTAP at 50% concentration produced the largest inhibition zone, whereas KBM was only active at 25%. The MIC of CTAP was 8192 µg/mL for both strains, while KBM showed MIC values of 8192 µg/mL and 16384 µg/mL against non-ESBL and ESBL strains, respectively. The FICI value of 2 indicated an indifferent interaction. Overall, the findings suggest that strong molecular binding affinity does not necessarily correlate with biological effectiveness. The low activity of KBM may be influenced by solubility, stability, and active compound concentration, whereas the moderate activity of CTAP is likely attributed to non-specific mechanisms such as pH elevation and membrane disruption.

***Keywords**: Antibacterial, Cashew Nutshell, Checkerboard, Eggshell, ESBL.*

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Meningkatnya kasus *multidrug-resistant* (MDR) menjadi masalah serius dalam bidang kesehatan. Salah satu ancaman utama adalah bakteri penghasil *Extended spectrum beta lactam* (ESBL) yang mampu menghidrolisis antibiotik golongan β-laktam.[1] Di Indonesia, tingkat resistensi bakteri dilaporkan meningkat dari 40% pada tahun 2013 menjadi 60,4% pada tahun 2019, dan diperkirakan mendekati 97% pada tahun 2030 jika tidak ada intervensi yang efektif. Prevalensi bakteri penghasil ESBL dilaporkan mencapai 50-82%.[2,3] Kondisi ini bukan hanya menimbulkan beban signifikan terhadap sistem pelayanan kesehatan, tetapi juga menghambat pencapaian *Sustainable Development Goals* (SDGs) poin ketiga, yaitu *Good Health and Well-Being*.[3]

Berbagai upaya pengembangan antibakteri berbasis bahan alam telah dilakukan, mengingat Indonesia sebagai salah satu negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi di dunia.[4] Namun, pemanfaatan sumber daya tersebut masih belum optimal, bahkan pada sumber daya yang berlimpah tetapi hanya dianggap sebagai limbah, seperti cangkang telur ayam dan kulit biji mete (*Anacardium occidentale* L.). Cangkang telur ayam diketahui mengandung ±94% kalsium karbonat ($CaCO_3$) dan dapat dikonversi menjadi kalsium oksida (CaO). Pada penelitian sebelumnya, senyawa ini terbukti memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*.[5,6] Pada penelitian lainnya, limbah kulit biji mete diketahui mengandung

senyawa seperti asam anakardat, kardol, dan kardanol yang menunjukkan aktivitas potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, dan *E.coli*.[7,8,9]

Penelitian kombinasi kedua bahan alam tersebut sebagai antibakteri belum banyak dilakukan. Studi sebelumnya memanfaatkan cangkang telur ayam dan ekstrak bunga cengkeh sediaan pasta gigi. Namun, efek kombinasinya belum pernah dievaluasi secara mendalam.[10] Sementara itu, kulit biji mete belum banyak diteliti dalam kombinasi dengan ekstrak lain. Sehingga, kombinasi cangkang telur ayam dan kulit biji mete dapat menjadi alternatif agen antibakteri berbasis pemanfaatan limbah bahan alam.

Pengujian kombinasi antibakteri umumnya dilakukan menggunakan metode difusi, mikrodilusi dan *checkerboard assay*.[11,12,13] *Checkerboard assay* menawarkan kelebihan berupa gambaran kuantitatif mengenai interaksi antar ekstrak sehingga dipilih sebagai metode penelitian ini.[14] Pendekatan ini juga diperkuat dengan analisis *molecular docking* yang mengevaluasi afinitas senyawa aktif terhadap reseptor target.[15,16,17] Dengan demikian, penelitian mengenai aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak cangkang telur ayam dan kulit biji mete, yang diperkuat dengan analisis *molecular docking* ligan uji senyawa cangkang telur ayam dan kulit biji mete diharapkan dapat memberikan solusi alternatif dalam menghadapi infeksi bakteri penghasil ESBL

I.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak berdasarkan pendekatan *in silico* melalui *molecular docking* terhadap target protein bakteri?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri dan prediksi mekanisme kerja kombinasi ekstrak cangkang telur ayam dan kulit biji mete terhadap bakteri penghasil ESBL berdasarkan pengujian *in vitro*?

I.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Memprediksi interaksi molekuler senyawa aktif dalam kombinasi ekstrak terhadap target protein bakteri melalui pendekatan *molecular docking*.
2. Mengevaluasi potensi aktivitas antibakteri dan prediksi mekanisme kerja kombinasi ekstrak cangkang telur ayam dan kulit biji mete terhadap bakteri penghasil ESBL menggunakan *checkerboard assay*.

I.4 Manfaat penelitian

Penelitian ini mengeksplorasi potensi kombinasi ekstrak cangkang telur ayam dan kulit biji mete sebagai antibakteri, yang diharapkan dapat menjadi dasar alternatif terapi infeksi resisten antibiotik serta memperkaya literatur obat bahan alam.