EVALUASI SINERGISME KOMBINASI EKSTRAK KULIT BIJI METE (*Anacardium occidentale*) DAN ANTIBIOTIK β-LAKTAM TERHADAP BAKTERI PENGHASIL *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) DENGAN *CHECKERBOARD ASSAY*

SKRIPSI

OLEH :

IRZHA PUTRA SUPTYA

NIM. I1021221095

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2026

EVALUASI SINERGISME KOMBINASI EKSTRAK KULIT BIJI METE (*Anacardium occidentale*) DAN ANTIBIOTIK β-LAKTAM TERHADAP BAKTERI PENGHASIL *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (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 :

IRZHA PUTRA SUPTYA

NIM. I1021221095

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2026

SKRIPSI

EVALUASI SINERGISME KOMBINASI EKSTRAK KULIT BIJI METE (*Anacardium occidentale*) DAN ANTIBIOTIK β-LAKTAM TERHADAP BAKTERI PENGHASIL *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) DENGAN *CHECKERBOARD ASSAY*

OLEH:

IRZHA PUTRA SUPTYA

NIM. I1021221095

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal: 10 April 2026

Disetujui,

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Dr. Hariyanto H, M.Si., Apt NIP. 198501062009121009	Dr. Inarah Fajriaty, M.Si., Apt NIP. 198004072009122002
Penguji Utama,	**Penguji Pendamping,**
Dr. Eka Kartika Untari, M.Farm., Apt NIP. 198301192008122001	Dr. apt. Rafika Sari, M.Farm NIP. 198401162008012002

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

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

Lulus Tanggal : **10 April 2026**
No. SK Dekan FK : **2909/DST/UN22.9/DT.00.10/2026**
Tanggal SK : **8 Juni 2026**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Irzha Putra Suptya

NIM : I1021221095

Jurusan/Prodi : Farmasi

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah 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, 31 Maret 2026

Yang Membuat Pernyataan,

Irzha Putra Suptya

NIM.1021221095

KATA PENGANTAR

Segala puji puji bagi Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkah dan karunia-Nya sehingga naskah skripsi dengan judul "Evaluasi Sinergisme Kombinasi Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium Occidentale*) dan Antibiotik B-Laktam Terhadap Bakteri Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) dengan *Checkerboard Assay*" ini dapat diselesaikan dengan baik. Naskah ini diajukan sebagai salah satu tahapan dalam memenuhi persyaratan untuk mendapatkan gelar sarjana farmasi (S.Farm) di Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat pada tahun ajaran 2025/2026.

Skripsi ini diselesaikan melalui proses yang panjang dan pastinya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak yang telah memberikan bimbingan, bantuan, dan dukungan baik secara materi maupun spiritual, yaitu sebagai berikut.

1. dr. Ita Armyanti, M.Pd.Ked. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
2. Dr. Bambang Wijianto, M.Sc., Apt. selaku Ketua Bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak
3. Nera Umilia Purwanti, M.Sc., Apt. selaku Koordinator Program Studi S1 Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak
4. Dr. Hariyanto IH, M.Si., Apt selaku Pembimbing Utama yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan arah, dan mengajarkan serta memotivasi selama penyusunan skripsi ini.

5. Dr. Inarah Fajriaty, M.Si., Apt selaku Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan dan pengarahan, serta senantiasa menyemangati penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Dr. Eka Kartika Untari, M.Farm., Apt selaku Penguji Utama dan Dr. apt. Rafika Sari, M.Farm selaku Penguji Pendamping yang telah memberikan kritik dan masukan demi penyempurnaan skripsi.
7. Dr. Bambang Wijianto, M.Sc., Apt selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama perkuliahan.
8. Bapak/Ibu dosen dan civitas akademik di Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak
9. Kedua Orang Tua penulis, yang senantiasa memberikan semangat, nasihat, doa dan dukungan tiada henti, untuk beliau berdualah skripsi ini penulis persembahkan.
10. Rekan "Tim Sukses Kompre" yang menjadi tempat berbagi semangat, ambisi, dan saling menguatkan dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Rekan "Tim Mikrobiologi" yang senantiasa membersamai penulis selama masa penelitian

Demikian naskah skripsi ini, semoga dapat bermanfaat bagi semua pihak. Penulis merasa masih banyak kekurangan dalam pembuatan naskah ini sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan.

Pontianak,.....

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

SKRIPSI i

HALAMAN PENGESAHAN ii

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iii

KATA PENGANTAR iv

DAFTAR ISI vi

DAFTAR TABEL x

DAFTAR GAMBAR xii

DAFTAR LAMPIRAN xiv

DAFTAR SINGKATAN 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 Jambu Mete (*Anacardium occidentale*) 4

II.1.1 Klasifikasi Tanaman 4

II.1.2 Deskripsi Tanaman 4

II.2 *Klebsiella pneumoniae* 6

II.3 Antibiotik 7

II.3.1 Antibiotik β-Laktam 9

II.3.2 Mekanisme Kerja Antibiotik 9

II.3.3 Mekanisme Resistensi Antibiotik 10

II.4 *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) 10

II.5 Studi *In Silico* 11

II.5.1 *Molecular Docking* 11

II.5.2 Jenis-jenis Ikatan Kimia 12

II.5.3 Reseptor SHV-1 β-*Lactamase* 15

II.5.4 Reseptor *Penicillin-Binding Protein* 15

II.6 Uji Aktivitas Antibakteri 15

II.6.1 Difusi 16

II.6.2 Mikrodilusi 16

II.6.3 *Checkerboard Assay* 17

II.7 Landasan Teori 17

II.8 Kerangka Konsep 18

II.9 Hipotesis Penelitian 19

BAB III METODOLOGI 21

III.1 Alat dan Bahan 21

III.1.1 Alat 21

III.1.2 Bahan 22

III.2 Bakteri 22

III.3 Prosedur Penelitian 23

III.3.1 Determinasi Tanaman 23

III.3.2 Tempat dan Waktu Penelitian 23

III.3.3 Etik Penelitian 23

III.3.4 Variabel Penelitian 23

III.4 Jalannya Penelitian 24

III.4.4 Uji *In Silico* 24

III.4.1 Preparasi Sampel Antibiotik β-laktam 25

III.4.2 Preparasi Sampel Kulit Biji Mete 26

III.4.3 Uji *In Vitro* 26

III.5 Analisis Data 34

III.6 Alur Penelitian 35

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 36

IV.1 Kaji Etik 37

IV.2 Uji *In Silico Molecular Docking* 37

IV.2.1 Penyiapan Struktur Ligan 37

IV.2.2 Penyiapan Struktur Protein 40

IV.2.3 Validasi Metode Docking 42

IV.2.4 *Molecular Docking* 44

IV.3 Ekstraksi Kulit Biji Mete 59

IV.4 Uji Aktivitas Antibakteri Tunggal Ekstrak Kulit Biji Mete dan Antibiotik β-Laktam dengan Metode Difusi dan Mikrodilusi 60

IV.5 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Kulit Biji Mete dan Antibiotik β-laktam dengan Penentuan Nilai *Fractional Inhibitory Concentration Indxs* (FICI) melalui Metode *Checkerboard* 67

IV.6 Uji Korelasi Antar Variabel Uji 71

BAB V PENUTUP 75

V.1 KESIMPULAN 75

V.2 Saran 75

DAFTAR PUSTAKA 77

LAMPIRAN 84

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

Tabel 1. Mekanisme kerja dan resisten antibiotik 7

Tabel 2. Pedoman derajat hubungan pada uji korelasi Pearson 34

Tabel 3. Hasil penentuan fisikokimia ligan yang terkandung dalam ekstrak kulit biji mete dan antibiotik β-laktam 38

Tabel 4. Hasil *minimize energy* dan konformasi 3D ligan uji 39

Tabel 5. Koordinat *gridbox* dan dimensi *gridbox* dari *native ligand* reseptor SHV-1 *β-Lactamase* dan *Penicillin-Binding Protein*.....42

Tabel 6. Hasil validasi metode docking berupa RMSD dan konformasi 3D reseptor SHV-1 *β-Lactamase* dan *Penicillin-Binding Protein*.....43

Tabel 7. Hasil energi ikatan, ikatan hidrogen, dan persentase kesamaan residu asam amino, yang dilengkapi dengan visualisasi 3D dan 2D ikatan pada ligan terhadap reseptor SHV-1 *β-Lactamase*.....45

Tabel 8. Hasil energi ikatan, ikatan hidrogen, dan persentase kesamaan residu asam amino, yang dilengkapi dengan visualisasi 3D dan 2D ikatan pada ligan terhadap reseptor *Penicillin-Binding Protein* 53

Tabel 9. Hasil uji organoleptik dan rendemen ekstrak kulit biji mete.....59

Tabel 10. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak kulit biji mete dan antibiotik β-laktam terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 dan *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 penghasil ESBL 61

Tabel 11. Hasil penentuan *minimum inhibitory concentration* (MIC) ekstrak etanol 96% kulit biji mete (KBM) dan antibiotik β-laktam terhadap

bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 dan *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 penghasil ESBL.....63

Tabel 12. Hasil penentuan *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan *fractional inhibitory concentration index* (FICI) kombinasi ekstrak kulit biji mete dan antibiotik β-laktam terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 dan *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 penghasil ESBL 69

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

Gambar 1. Jambu mete 5

Gambar 2. (A) Kardanol monoena, **(B)** kardanol diena, dan **(C)** kardanol triena 5

Gambar 3. *Klebsiella pneumoniae* perbesaran 100x 6

Gambar 4. Kerangka konsep.....19

Gambar 5. Ilustrasi uji aktivitas antibakteri metode difusi.....30

Gambar 6. Ilustrasi uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi 31

Gambar 7. Ilustrasi uji aktivias antibakteri metode *checkerboard* 33

Gambar 8. Alur penelitian 35

Gambar 9. Hasil preparasi reseptor **(A)** SHV-1 β-*Lactamase* (PDB ID : 4ZAM), dan **(B)** *Penicillin-Binding Protein* (PBD ID: 8GPW).....41

Gambar 10. Zona hambat yang terbentuk pada uji sensitivitas **(A)** ampisilin, **(B)** sefotaksim, dan **(C)** meropenem terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 penghasil ESBL dengan metode difusi.....60

Gambar 11. Hasil penentuan *minimum inhibitory concentration* (MIC) ekstrak kulit biji mete dan antibiotik β-laktam terhadap bakteri **(A)** *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 dan **(B)** *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 penghasil ESBL dengan metode mikrodilusi 64

Gambar 12. Hasil uji *checkerboard* kombinasi kulit biji mete dan **(A)** meropenem, **(B)** ampisilin, **(C)** sefotaksim terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 penghasil ESBL 68

Gambar 13. Hasil analisis korelasi pearson 71

Gambar 14. Mekanisme kerja antibakteri kombinasi ekstrak kulit biji mete dan antibiotik β-laktam 73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

Lampiran 1. Payung Penelitian 84

Lampiran 2. Determinasi Tanaman 85

Lampiran 3. Perhitungan Larutan Sampel Ekstrak 86

Lampiran 4. Perhitungan larutan stok dan larutan uji antibiotik pengujian zona hambat 87

Lampiran 5. Perhitungan larutan uji antibiotik pengujian mikrodilusi 88

Lampiran 6. Kaji etik 89

Lampiran 7. Perhitungan nilai FICI 90

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: *Analysis of Variance*
AMR	: *Antimicrobial Resistance*
CNSL	: *Cashew Nut Shell Liquid*
ESBL	: *Extended Spectrum Beta Lactamase*
FICI	: *Fractional Inhibitory Concentration Indeks*
KBM	: Kulit Biji Mete
MHA	: *Mueller Hinton Agar*
MHB	: *Mueller Hinton Broth*
MIC	: *Minimum Inhibitory Concentration*
WHO	: *Wolrd Health Organization*

ABSTRAK

Resistensi antimikroba, termasuk akibat bakteri penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL), telah menjadi ancaman serius kesehatan global karena menurunkan efektivitas antibiotik β-laktam. Salah satu upaya untuk mengatasi masalah ini adalah mengombinasikan antibiotik dengan agen antibakteri alami, misalnya ekstrak kulit biji mete (*Anacardium occidentale*), yang kaya senyawa aktif asam anakardat, kardol, dan kardanol dengan potensi aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi sinergisme kombinasi ekstrak kulit biji mete dengan antibiotik β-laktam terhadap bakteri penghasil ESBL menggunakan *checkerboard assay*. Penelitian dilakukan melalui pendekatan *in silico* dan *in vitro*. Uji *in silico* dengan *molecular docking* terhadap senyawa kardanol monoena, kardanol diena, dan kardanol triena untuk menilai afinitas ligan terhadap protein target yaitu SHV-1 β-laktamase dan *Penicillin-Binding Protein*, serta *in vitro* (difusi, mikrodilusi, *checkerboard*) untuk menentukan zona hambat, nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC), dan *fractional inhibitory concentration index* (FICI). Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa senyawa kardanol triena memiliki afinitas tertinggi terhadap reseptor SHV-1 β-laktamase dan *Penicillin-Binding Protein*, ditandai dengan energi ikatan masing-masing sebesar -5,73 kcal/mol dan -7,61 kcal/mol, serta membentuk ikatan hidrogen pada residu asam amino kunci. Selain itu, kombinasi ekstrak kulit biji mete dengan antibiotik β-laktam (meropenem, ampisilin, dan sefotaksim) menunjukkan efek sinergis terhadap *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL dengan nilai FICI ≤ 0,5. Hasil sinergis tersebut menunjukkan adanya interaksi yang saling menguntungkan antara ekstrak kulit biji mete dan antibiotik β-laktam. Kombinasi ini mampu menurunkan nilai MIC dan meningkatkan aktivitas antibakteri dibandingkan penggunaan tunggal.

Kata kunci: *Anacardium occidentale*, antibiotik β-laktam, *checkerboard assay*, ESBL, sinergisme

ABSTRACT

Antimicrobial resistance, including that caused by Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-producing bacteria, has become a serious global health threat due to its ability to reduce the effectiveness of β-lactam antibiotics. One approach to address this problem is by combining antibiotics with natural antibacterial agents, such as cashew nut shell extract (Anacardium occidentale), which is rich in active compounds including anacardic acid, cardol, and cardanol with potential antibacterial activity. This study aims to evaluate the synergistic effect of the combination of cashew nut shell extract with β-lactam antibiotics against ESBL-producing bacteria using a checkerboard assay. The research was conducted through both in silico and in vitro approaches. The in silico study was performed using molecular docking of cardanol monoene, cardanol diene, and cardanol triene to assess ligand affinity toward target proteins, namely SHV-1 β-lactamase and Penicillin-Binding Protein, while the in vitro assays (diffusion, microdilution, and checkerboard) were conducted to determine inhibition zones, minimum inhibitory concentration (MIC), and fractional inhibitory concentration index (FICI). The molecular docking results showed that cardanol triene exhibited the highest affinity toward SHV-1 β-lactamase and Penicillin-Binding Protein receptors, indicated by binding energies of -5.73 kcal/mol and -7.61 kcal/mol, respectively, and the formation of hydrogen bonds with key amino acid residues. Furthermore, the combination of cashew nut shell extract with β-lactam antibiotics (meropenem, ampicillin, and cefotaxime) demonstrated a synergistic effect against ESBL-producing Klebsiella pneumoniae, with FICI values ≤ 0.5. These synergistic results indicate a mutually beneficial interaction between the cashew nut shell extract and β-lactam antibiotics. This combination was able to reduce MIC values and enhance antibacterial activity compared to single-agent use.

.

Keywords: *Anacardium occidentale, β-lactam antibiotics, ESBL, checkerboard assay, synergism*

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa resistensi antimikroba (AMR), termasuk antibiotik, telah menyebabkan sekitar 1,27 juta kematian global pada tahun 2019. Sebuah studi mengestimasikan angka kematian akibat resistensi antimikroba mencapai 4,71 juta. Data ini diperkirakan mencapai hingga 10 juta kematian per tahun pada 2050.[1,2] Berdasarkan hasil Survei Kesehatan Indonesia 2023, diketahui bahwa dari 22,1% masyarakat yang mengonsumsi antibiotik oral dalam setahun terakhir, sebanyak 41% mendapatkannya tanpa resep.[3] Kondisi ini mencerminkan penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan berkontribusi terhadap meningkatnya bakteri resisten, sehingga menurunkan efektivitas berbagai antibiotik dalam terapi infeksi.[4]

Mekanisme resistensi bakteri dapat terjadi melalui produksi *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL), yaitu enzim β-laktamase yang mengalami mutasi sehingga meningkatkan aktivitas enzimatiknya.[5] ESBL mampu menghidrolisis cincin β-laktam, yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik golongan penisilin, sefalosporin, dan aztreonam, serta terhadap kelas lain seperti aminoglikosida, trimetoprim-sulfametoxazol, dan kuinolon.[6,7] Mikroorganisme penghasil ESBL umumnya berasal dari famili *Enterobacteriaceae* seperti *Klebsiella pneumoniae*. Selain itu, bakteri penghasil ESBL sering termasuk dalam kategori *Multidrug-Resistant* (MDR), yaitu resisten terhadap ≥ 1 agen dari ≥ 3 kelas antibiotik.[8,9]

Agen alami yang berpotensi bertindak sebagai antibakteri adalah kulit biji mete (*Anacardium occidentale*). Bagian ini mengandung senyawa aktif utama seperti asam anakardat 60–70%, kardol 10–20%, dan kardanol 3–10%. Kardanol diketahui memiliki afinitas yang stabil terhadap protein target bakteri, dan berperan dalam aktivitas antibakteri.[10] Namun, kajian mengenai senyawa turunan kardanol masih terbatas, sedangkan modifikasi struktur fenolik terbukti dapat meningkatkan aktivitas antibakteri.[11] Karakteristik tersebut memungkinkan terjadinya interaksi dengan antibiotik, sehingga berpotensi menghasilkan efek yang lebih efektif. Penelitian sebelumnya tentang kombinasi antara amoksisilin dan ekstrak etanol daun sirih menunjukkan hasil yang sinergis terhadap bakteri gram positif dan negatif. Hasil ini mengindikasikan bahwa kombinasi antibiotik dengan agen alami berpeluang untuk menurunkan dosis antibiotik yang dibutuhkan, mengurangi efek samping, memperlambat muncul resistensi baru, serta dapat menjadi alternatif terapi. Pendekatan ini berpotensi memulihkan efektivitas antibiotik yang telah berkurang akibat resistensi.[12]

Prosedur yang mampu memberikan nilai kuantitatif dari potensi sinergisme tersebut adalah metode *checkerboard*. Metode ini menghasilkan nilai *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI) yang menunjukkan interaksi kombinasi bersifat sinergis, aditif, indiferen, atau antagonis. Metode ini memungkinkan untuk penentuan konsentrasi efektif agen yang berperan dalam menghasilkan aktivitas antibakteri.[13] Temuan ini dipertegas dengan analisis *in silico* melalui pemahaman interaksi molekular pada ligan dan protein target, untuk mengidentifikasi turunan kardanol yang potensial. [14]

I.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana afinitas farmakologi dan residu asam amino antara ligan dengan protein target?
2. Bagaimana efektivitas kombinasi ekstrak kulit biji mete dengan antibiotik β-laktam terhadap bakteri penghasil ESBL, yang dievaluasi menggunakan metode *checkerboard*?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengkaji afinitas farmakologi dan residu asam amino antara ligan dengan protein target.
2. Mengevaluasi efektivitas kombinasi ekstrak kulit biji mete dengan antibiotik β-laktam terhadap bakteri penghasil ESBL, melalui metode *checkerboard*.

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan acuan bagi penelitian berikutnya, serta memperkaya ilmu pengetahuan dalam pengembangan inovasi terapi antibakteri.