UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *IN SILICO* DAN *IN VITRO* EKSTRAK DAN FRAKSI BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* PENGHASIL ESBL (*EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE*)

SKRIPSI



Oleh :

ADINATA

NIM. I1021201030

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2025

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *IN SILICO* DAN *IN VITRO* EKSTRAK DAN FRAKSI BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* PENGHASIL ESBL (*EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE*)

SKRIPSI

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

Oleh :

ADINATA

NIM. I1021201030

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2025

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *IN SILICO* DAN *IN VITRO* EKSTRAK DAN FRAKSI BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* PENGHASIL ESBL (*EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE*)

Oleh :

ADINATA
NIM. I1021211030

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

Tanggal : 19 Maret 2025

Disetujui

Pembimbing Utama	**Pembimbing Pendamping**
Fajar Nugraha, M.Sc., Apt.	**Hadi Kurniawan, M.Sc., Apt.**
NIP.198907012020121010	**NIP.198904192019031010**
Penguji Utama	**Penguji Pendamping**
Nera Umilia Purwanti, M.Sc., Apt.	**Apt. Andre Reynaldi, M.S.Farm.**
NIP. 198102242008122003	**NIP. 199509142024061001**

Mengetahui
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

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

Lulus Tanggal : 19 Maret 2025
No. SK Dekan FK :
Tanggal SK :

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Adinata

NIM : I1021201030

Jurusan/Prodi : Farmasi

Dengan ini saya mengatakan 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 disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Pontianak, 19 Maret 2025

Yang membuat pernyataan

Adinata

NIM. I1021201030

KATA PENGANTAR

Rasa syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas kehendak-Nya, penulis mampu menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri *In Silico* dan *In Vitro* Ekstrak dan Fraksi Buah Lerak (*Sapindus rarak*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta-Lactamase*)."

Penulisan skripsi ini adalah sebagai syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana (S1) Farmasi di Universitas Tanjungpura Tahun Ajaran 2024/2025.

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan, yaitu :

1. dr. Ita Armyanti, M.Pd. Ked. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
2. Nera Umilia Purwanti, M.Sc., Apt. sebagai Koordinator Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
3. Desy Siska Anastasia, M.Si., Apt. sebagai Pembimbing Akademik.
4. Fajar Nugraha, M.Sc., Apt. sebagai Pembimbing Utama dan Hadi Kurniawan M.Sc., Apt. sebagai Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, ilmu, dan saran selama proses pembuatan skripsi.
5. Nera Umilia Purwanti, M.Sc., Apt. sebagai Penguji Utama dan Apt. Muhammad Andre Reynaldi, M.S.Farm., sebagai Penguji Pendamping yang telah memberikan saran dan kritik selama proses pembuatan skripsi.

6. Orang tua dan keluarga yang telah memberikan dukungan moral, motivasi, dan doa selama perkuliahan.
7. Rekan-rekan Farmasi Universitas Tanjungpura angkatan 2021 yang membantu perkuliahan.
8. Saskia Monalisa yang mendampingi selama perkuliahan, penelitian, dan penyusunan skripsi ini.
9. Atuy, Agus, Ali, Ridho, Very yang telah saling memberikan dukungan selama perkuliahan.
10. Teman-teman penelitian Hestiva, Maryani, Reny, Tri, dan Ridho yang bersama-sama menyusun tugas akhir.
11. Seluruh civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, terutama dosen.

Penulis memahami bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga saran dan kritik selalu diterima untuk tujuan yang membangun. Demikian pengantar skripsi ini, semoga dapat bermanfaat.

Pontianak, 19 Maret 2025

Yang membuat pernyataan

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul i

Lembar Pengesahan ii

Pernyataan Keaslian Tulisan iii

Kata Pengantar iv

Daftar Isi vi

Daftar Tabel ix

Daftar Gambar x

Daftar Lampiran xii

Daftar Singkatan xiii

Abstrak xiv

Abstract XV

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 DAFTAR PUSTAKA 5

II.1. Infeksi Bakteri 5

II.2. Antibiotik 6

II.2.1. Peran Antibiotik 6

II.2.2. Klasifikasi Antibiotik 7

II.2.3. Kelemahan Terapi Antibiotik 8

II.3. Dampak Resistensi Bakteri 9
II.4. Bakteriologi *Escherichia coli* 10
II.5. Buah Lerak (*Sapindus rarak Fructus*) 12
II.6. Saponin 15
II.7. Ekstraksi dan Fraksinasi 16
II.8. Penambatan Molekuler 17
II.9. Difusi Cakram 20
II.10. Dilusi 21
II.11. Profil Fisikokimia Senyawa Lerak 22
II.12. Landasan Teori 23
II.13. Kerangka Konsep 25
II.14. Hipotesis Penelitian 25
BAB III METODOLOGI PENELITIAN 27
III.1. Alat dan Bahan 27
III.1.1. Alat 27
III.1.2. Bahan 28
III.2. Bakteri 28
III.3. Tempat dan Waktu Penelitian 29
III.4. Etik Penelitian 29
III.5. Variabel Penelitian 29
III.5.1. Variabel Bebas 29
III.5.2. Variabel Terikat 30
III.6. Jalannya Penelitian 30

III.6.1. Uji *In Silico* 30

III.6.2. Uji *In Vitro* 32

III.7. Skema Alur Penelitian 44

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 45

IV.1. Uji *In silico* 45

IV.1.1. Preparasi Protein 45

IV.1.2. Preparasi Ligan 46

IV.1.3. Validasi Parameter Penambatan 47

IV.1.4. Analisis Energi Ikatan dan Visualisasi Interaksi 48

IV.2. Uji Antibakteri *In Vitro* 53

IV.2.1. Praperlakuan Tanaman 53

IV.2.2. Standardisasi 55

IV.2.3. Fraksinasi 57

IV.2.4. Skrining Fitokimia 57

IV.2.5. Pewarnaan *Gram* 63

IV.2.6. Uji Difusi Cakram dan Mikrodilusi 64

IV.2.7. Hubungan Uji *In Silico* dan *In Vitro* 69

IV.2.8. Keterbatasan Penelitian 70

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 72

V.1. Kesimpulan 72

V.2. Saran 72

DAFTAR PUSTAKA 73

LAMPIRAN 83

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Profil Fisikokimia Senyawa Buah Lerak 23
2. Hasil Validasi Protein. 47
3. Hasil Penambatan Molekuler Antara Ligan Uji dan Protein 6NTZ..... 48
4. Rendemen Ekstrak Etanol Buah Lerak 54
5. Standardisasi Non Spesifik Ekstrak Lerak. 56
6. Rendemen Fraksi Ekstrak Etanol Buah Lerak 57
7. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Lerak. 58
8. Hasil Uji Skrining Fitokimia Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi N-Heksan Buah Lerak. 61
9. Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak dan Fraksi Buah Lerak Terhadap *E. coli* ESBL (—) dan *E. coli* ESBL (+) 64
10. Zona Hambat Antara Meropenem dan Ampisilin dengan *t-Test*. 65

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Struktur *E. coli*.[33] 10
2. Penampakan Daun dan Buah *S.Rarak.* 13
3. Konsentrasi Saponin pada Bagian Buah, Batang, dan Biji Tanaman *S. saponaria.*[34] 14
4. Struktur Saponin.[35] 15
5. Uji Difusi Cakram atau Difusi *Kirby-Bauer*.[50] 21
6. Struktur Senyawa Kandungan Buah Lerak. 22
7. Kerangka Konsep Penelitian. 25
8. Kristalografi *Penicillin Binding Protein* (PBP) yang Berkompleks dengan Meropenem (PDB ID : 6NTZ).[53] 30
9. Ilustrasi Metode Difusi Cakram. 39
10. Ilustrasi Uji Mikrodilusi 40
11. Ilustrasi Pengukuran Metode Cakram 41
12. Ilustrasi Penetapan KHM 42
13. Skema Penelitian 44
14. Sisi Aktif Protein PBP 6NTZ 46
15. Visualisasi Kristalografi Tumpang Tindih Antara Ligan Asal (Magenta) dan Konformasi Ligan Penambatan Ulang (Kuning). 48
16. Interaksi Ligan Residu Asam Amino SER 73.. 52
17. Visualisasi Interaksi Ligan dengan Reseptor.. 53
18. Pewarnaan *Gram* bakteri *E. coli*. (a) ESBL (—); (b) ESBL (+). 63

19. Hasil Uji Difusi Cakram Ekstrak dan Fraksi Buah Lerak Terhadap *E. coli* ESBL (—) (a) *E. Coli* Penghasil ESBL (b). 66

20. Interaksi Selulosa dan Saponin. 67

21. Hasil Uji Mikrodilusi Ekstrak dan Fraksi Buah Lerak Terhadap *E. coli* ESBL (-) (a) dan *E. Coli* ESBL (+) (b). 68

22. Mekanisme Kerja 69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Kaji Etik 83
2. *Certificate of Analysis Escherichia coli* ATCC 25922 84
3. *Paper* koleksi *Escherichia coli* ESBL 87
4. Hasil determinasi tanaman. 88
5. *Certificate of Analysis* DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 89
6. *Certificate of Analysis Blank* Cakram Steril 90
7. Perhitungan Larutan Sampel 91
8. Perhitungan Larutan Stok Meropenem 92
9. Perhitungan Mikrodilusi 93
10. Lampiran Dokumentasi Penelitian 95
11. Hasil Difusi Cakram dan Mikrodilusi 97

DAFTAR SINGKATAN

AMR	:	*Antimicrobial Resistance*
ATCC	:	*American Type Culture Collection*
DMSO	:	Dimetil sulfoksida
ESBL	:	*Extended Spectrum Beta-Lactamase*
KHM	:	Konsentrasi Hambat Minimum
MIC	:	*Minimum Inhibitory Concentration*
MHA	:	*Mueller-Hinton Agar*
MHB	:	*Mueller-Hinton Broth*
PBP	:	*Penicillin Binding Protein*
PDB	:	*Protein Data Bank*

ABSTRAK

Peningkatan fenomena *Antimicrobial Resistance* (AMR) mendorong kebutuhan antibakteri baru sebagai kandidat obat eradikasi bakteri resisten seperti *E. coli* ESBL. Ekstrak dan fraksi buah lerak (*Sapindus rarak*) mengandung banyak senyawa saponin yang memiliki potensi antibakteri dengan mengikat protein membran bakteri. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis kemampuan antibakteri buah lerak melalui pendekatan *in silico,* kemudian mengevaluasi ekstrak dan fraksinya secara *in vitro*. Penambatan molekuler dilakukan terhadap yang teridentifikasi dalam buah lerak pada *Pencillin Binding Protein* (PDB ID : 6NTZ) dengan *Autodock Tools*. Uji antibakteri ekstrak dan fraksi buah lerak dilakukan dengan difusi cakram dan mikrodilusi. Penambatan senyawa raraosida A, rarasaponin V, dan rarasaponin VI menghasilkan nilai energi ikatan sebesar -7,31 dan -6,90 Kkal/mol secara berturut-turut, memiliki interaksi dengan protein membran bakteri melalui asam amino SER 73 yang identik dengan ligan asal. Tidak teramati zona hambat pada uji difusi cakram, namun konsentrasi hambat minimum (KHM) terkecil sebesar $2{,}5\times10^{4}$ µg/mL pada fraksi air dan n-heksan ekstrak etanol buah lerak. Berdasarkan hasil tersebut, disimpulkan bahwa buah lerak memiliki potensi sebagai antibakteri baru untuk bakteri *E. coli* penghasil ESBL.

Kata Kunci : Resistensi antibakteri, Lerak, Saponin, Antibakteri, *E. coli* ESBL.

ABSTRACT

The increasing Antimicrobial Resistance (AMR) drives the need of new antibacteria as drug candidate to eradicate resistant bacteria such as E. coli ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamase). Extract and fraction of lerak fruit (Sapindus rarak). contains numerous saponin compounds which have potential antibacterial properties by binding bacterial cell membrance. The purpose of this research is to analyze lerak fruit antibacterial properties through in silico, and evaluate its extract and fraction through in vitro. Molecular docking is conducted to identify compounds contained in lerak fruit against penicillin binding protein (PDB ID : 6NTZ) using Autodock Tools. Antibacterial testing of lerak fruit extract and fraction is then conducted with disc diffusion and microdilution. Docking of raraoside A, rarasaponin V, and rarasaponin VI showed binding energy of -7,31; -6,90; and -4,75 Kcal/mol respectively, interacts with SER 73 amino acid in bacterial membrane protein which is identical to native ligand. No inhibiton zone was observed on extract and fraction, yet lowest minimum inhibition concentration (MIC) was found at $2{,}27\times10^{4}$ *µg/mL on water and n-hexane fraction of lerak fruit ethanol extract. Based on the result, it is concluded that lerak fruit have potential as new antibacteria against ESBL producing E. coli.*

Keyword : *Antimicrobial resistance, Lerak, Saponin, Antibacterial, E. coli ESBL.*

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Escherichia coli ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) adalah patogen resisten prioritas WHO (*World Health Organization*) dengan kasus tertinggi di Indonesia yang menyebabkan beta laktam tidak lagi bekerja sebagai agen antiinfeksi.[1,2] Prevalensi bakteri ini di Indonesia menunjukkan resistensi tinggi terhadap tiga antibiotik beta-laktam generasi ketiga**,** yaitu ceftriaxone (64,7%), ceftazidime (56,4%), dan cefotaxime (80,0%) sebagai penyebab penyakit infeksi saluran kemih.[1] Eskalasi masalah ini menyebabkan penggunaan karbapenem sebagai lini terakhir, sehingga muncul bakteri penghasil karbapenamase.[3] Penemuan antibiotik baru direkomendasikan oleh WHO sebagai solusi masalah ini karena belum adanya pola resistensi terhadap antibiotik baru terutama bakteri ESBL.[2,4]

Senyawa berbasis tanaman menjadi alternatif, yaitu pemanfaatan buah lerak (*Sapindus rarak*). Buah lerak mengandung senyawa saponin seperti rarasaponin, raraosida A, dan mukuroziosida IIb. Senyawa ini diketahui mampu merusak integritas membran dinding sel bakteri.[5–8] Jika diasumsikan beta laktamase hanya mampu merusak struktur cincin beta laktam, maka dapat dideduksikan bahwa senyawa dari tanamanan ini mampu melewati mekanisme resistensi tersebut.[8,9] Hal ini menunjukkan potensi lerak sebagai sumber antibakteri baru terhadap bakteri *E. coli* ESBL.

Potensi ekstrak lerak diperkuat oleh uji difusi cakram dan dilusi

terhadap bakteri *E. coli* patogenik pada penelitian terdahulu, namun belum diketahui senyawa spesifik yang bertanggung jawab terhadap sifat antibakteri tanaman.[10] Uji *in vitro* yang dilakukan merupakan standar dalam Peraturan BPOM Nomor 8 Tahun 2023 yang mampu menentukan kepekaan bakteri terhadap senyawa uji, namun efek yang ditimbulkan sifatnya kumulatif atau tidak spesifik satu senyawa.[11,12] Pendekatan *in silico* seperti penambatan molekuler dapat mengetahui senyawa yang memiliki energi ikatan dan moda aksi yang dilakukan dibandingkan dengan senyawa asal (*native ligand*). Metode baru ini bersifat cepat dan hemat biaya.[13] Kombinasi kedua metode akan menjelaskan secara komprehensif senyawa yang bertanggung jawab dan juga efektivitasnya dalam waktu yang singkat. Ditambah lagi, pengujian *in vitro* dapat dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi sehingga menunjukkan kelompok senyawa yang bertanggung jawab.[10,14,15]

Pendekatan kombinasi uji *in silico* dan *in vitro* memberikan pemahaman yang lebih mendalam terhadap potensi antibakteri buah lerak terhadap *E. coli* ESBL. Penambatan molekuler memungkinkan identifikasi senyawa aktif yang berikatan dengan target protein bakteri serta memperkirakan moda aksi yang dilakukan dibandingkan dengan senyawa asal (*native ligand*). Hasil dari pendekatan ini kemudian dikonfirmasi melalui uji difusi cakram dan dilusi yang dapat menentukan efektivitas senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Integrasi kedua metode ini tidak hanya mempercepat proses seleksi senyawa antibakteri yang

potensial, tetapi juga memberikan pemahaman yang lebih komprehensif terkait mekanisme aksi dan efektivitasnya. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam pengembangan agen antibakteri berbasis tanaman sebagai alternatif dalam menghadapi resistensi antibiotik yang terus meningkat.

I.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana energi ikatan dan interaksi senyawa aktif dalam buah *Sapindus rarak* terhadap target protein pada bakteri *E. coli* penghasil ESBL berdasarkan penambatan molekuler?
2. Bagaimana efektivitas ekstrak dan fraksi buah lerak *Sapindus rarak* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* penghasil ESBL melalui uji difusi cakram dan dilusi?

I.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Menganalisis energi ikatan dan interaksi senyawa aktif dalam buah lerak terhadap target protein pada bakteri *E. coli* penghasil ESBL menggunakan penambatan molekuler.
2. Mengevaluasi efektivitas potensi antibakteri ekstrak dan fraksi buah lerak terhadap *E. coli* penghasil ESBL menggunakan uji difusi cakram dan dilusi.

I.4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini dijelaskan sebagai berikut.

1. Penelitian ini akan menjadi dasar pengembangan sediaan farmasi berbasis bahan alam berkaitan dengan sediaan antibakteri terhadap AMR.
2. Pengembangan antibakteri baru yang aman dan efektif sebagai alternatif pengobatan terhadap penyakit infeksi terutama *E. coli* ESBL untuk kepentingan penyediaan *antibiotic pipeline* oleh WHO.
3. Hasil penelitian ini akan meningkatkan nilai ekonomi dari buah lerak sebagai bahan baku obat.