

**IDENTIFIKASI *Shigella* DALAM OBAT TRADISIONAL
SEDIAAN SERBUK SIMPLISIA**



**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS FARMASI DAN MAKANAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES JAKARTA II**

2020

IDENTIFIKASI *Shigella* DALAM OBAT TRADISIONAL SEDIAAN SERBUK SIMPLISIA

Karya Tulis Ilmiah Ini Diajukan sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Ahli Madya Analis Farmasi dan Makanan



OLEH
HAFIDZA QATRUNADA ADRISTI
NPM P2.31.35.0.17.026

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS FARMASI DAN MAKANAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES JAKARTA II**

2020

LEMBAR PERSETUJUAN

Karya Tulis Ilmiah dengan Judul
“Identifikasi *Shigella* dalam Obat Tradisional
Sediaan Serbuk Simplisia”

Disusun oleh : Hafidza Qatrunada Adristi
NPM P2.31.35.0.17.026

Telah disetujui untuk dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II dalam rangka Ujian Akhir Program untuk memenuhi syarat guna memperoleh Gelar Ahli Madya Analisis Farmasi dan Makanan.

Jakarta, Juni 2020

Pembimbing Utama,



Junie Suriawati, S.Si., M.Si
NIP 19690608 199703 2002

Pembimbing Pendamping,



Dra. Hj. Misde Yola, M.Pd., M.Farm.
NIP 19661008 199403 2003

LEMBAR PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah dengan judul
“Identifikasi *Shigella* dalam Obat Tradisional
Sediaan Serbuk Simplisia”

Disusun oleh : Hafidza Qatrunada Adristi
NPM P2.31.35.0.17.026

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II dalam rangka Ujian Akhir Program untuk memenuhi syarat guna memperoleh Gelar Ahli Madya Analisis Farmasi dan Makanan.

Jakarta, 11 Juni 2020

Tim Penguji :

Ketua
Priyanto Dwi Nugroho, M.Si.
NIP 19820609 200501 1001

Anggota :
1. Luluk Istiqomah, S.Si., M.Si.
NIP 19881221 201403 2002

2. Junie Suriawati, S.Si., M.Si.
NIP 19690608 199703 2002

Ketua Program Studi
Analisis Farmasi dan Makanan



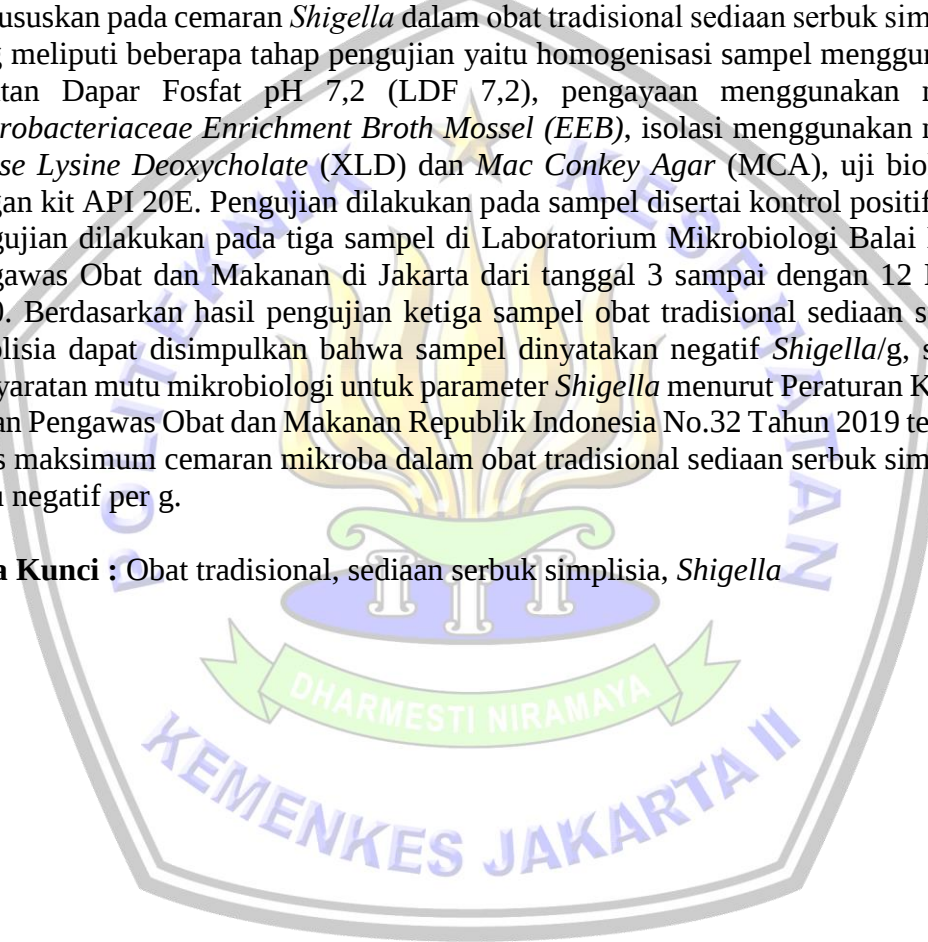
Ai Emalia Sukmawati, S.Farm., M.Si.
NIP 19640414 198409 2001

ABSTRAK

Hafidza Qatrunada Adristi, “Identifikasi *Shigella* dalam Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia”, di bawah bimbingan Junie Suriawati, S.Si., M.Si. dan Dra. Hj. Misde Yola, M.Pd., M.Farm., 2020.

Obat tradisional sediaan serbuk simplisia adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari simplisia atau campuran dengan ekstrak yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas. Kontaminasi mikroba pada obat tradisional dapat terjadi pada proses pengolahan bahan awal, produksi dan penyimpanan. Identifikasi secara mikrobiologi ini dikhususkan pada cemaran *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia yang meliputi beberapa tahap pengujian yaitu homogenisasi sampel menggunakan Larutan Dapar Fosfat pH 7,2 (LDF 7,2), pengayaan menggunakan media *Enterobacteriaceae Enrichment Broth Mossel (EEB)*, isolasi menggunakan media *Xylose Lysine Deoxycholate (XLD)* dan *Mac Conkey Agar (MCA)*, uji biokimia dengan kit API 20E. Pengujian dilakukan pada sampel disertai kontrol positif. Pengujian dilakukan pada tiga sampel di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan di Jakarta dari tanggal 3 sampai dengan 12 Maret 2020. Berdasarkan hasil pengujian ketiga sampel obat tradisional sediaan serbuk simplisia dapat disimpulkan bahwa sampel dinyatakan negatif *Shigella/g*, sesuai persyaratan mutu mikrobiologi untuk parameter *Shigella* menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.32 Tahun 2019 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia yaitu negatif per g.

Kata Kunci : Obat tradisional, sediaan serbuk simplisia, *Shigella*



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) berjudul “Identifikasi *Shigella* dalam Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia”.

Karya Tulis Ilmiah ini merupakan salah satu syarat kelulusan untuk memperoleh gelar Ahli Madya Analis Farmasi dan Makanan pada Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Poltekkes Kemenkes Jakarta II.

Pada kesempatan ini, dengan rasa hormat penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Keluarga tercinta yang telah memberikan doa, semangat dan dukungan.
2. Ibu Ai Emalia Sukmawati, S.Farm., M.Si. selaku Ketua Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II.
3. Ibu Junie Suriawati, S.Si., M.Si. selaku pembimbing utama dan Dra. Hj. Miske Yola, M.Pd., M.Farm. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, koreksi dan saran hingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan.
4. Ibu Luluk Istiqomah S.Si., M.Si. selaku penguji Karya Tulis Ilmiah.
5. Ibu Diah Yuniarti, S.Si. selaku Kepala Laboratorium Mikrobiologi BBPOM Jakarta. Ibu Ernawati Puji Rahayu, S.Si. dan Ibu Tri Hastuti, S.TP. selaku pembimbing pengujian Karya Tulis Ilmiah yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam bidang mikrobiologi.
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu hingga selesainya KTI ini.

Penulis menyadari bahwa KTI ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga pengujian ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun rekan-rekan lainnya.

Jakarta, Juni 2020

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PERSETUJUAN

LEMBAR PENGESAHAN

ABSTRAK

KATA PENGANTAR i

DAFTAR ISI ii

DAFTAR TABEL v

DAFTAR GAMBAR vi

DAFTAR LAMPIRAN vii

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Perumusan Masalah 2

1.3 Pembatasan Masalah 2

1.4 Tujuan 3

1.4.1 Tujuan Umum 3

1.4.2 Tujuan Khusus 3

1.5 Manfaat 3

1.5.1 Bagi Mahasiswa 3

1.5.2 Bagi Masyarakat 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4

2.1 Landasan Teori 4

2.1.1 Obat Tradisional 4

2.1.2 Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia 8

2.1.3 *Shigella* 9

2.1.3.1 Definisi 9

2.1.3.2 Shigellosis 9

2.1.3.3 Morfologi 10

2.1.3.4 Klasifikasi 10

2.1.3.5 Fisiologi 11

2.1.3.6 Epidemiologi 11

2.1.3.7 Patogenesis	12
2.1.3.8 Isolasi	12
2.1.4 <i>Analytical Profile Index 20E System</i>	13
2.2 Penelitian Relevan	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	16
3.1.1 Waktu Penelitian	16
3.1.2 Lokasi Penelitian.....	16
3.2 Prosedur Penelitian	16
3.2.1 Prinsip Penelitian	16
3.3 Prosedur Asli	16
3.3.1 Persiapan Sampel	16
3.3.1.1 Penanganan Wadah	16
3.3.2 Homogenisasi Sampel	17
3.3.3 Pengayaan	17
3.3.4 Isolasi	17
3.3.5 Konfirmasi Biokimia	17
3.3.6 Kontrol Positif	18
3.3.7 Kontrol Negatif	18
3.4 Alat dan Bahan	19
3.4.1 Alat	19
3.4.2 Bahan	19
3.4.2.1 Data Sampel	19
3.4.2.2 Data Baku	19
3.4.2.3 Data Pereaksi dan Media.....	20
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Hasil Penelitian	21
4.1.1 Data Penelitian	21
4.1.1.1 Data Homogenisasi	21
4.1.1.2 Data Pengayaan	21
4.1.1.3 Data Isolasi	21

4.1.1.4 Data API 20E	22
4.2 Pernyataan Hasil	22
4.3 Persyaratan	22
4.4 Pembahasan	23
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	28
5.1 Simpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

No.	Nama Tabel	Halaman
1.	Fisiologi <i>Shigella</i>	11
2.	Data Sampel Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia	19
3.	Hasil Homogenisasi Sampel	21
4.	Hasil Pengayaan Sampel	21
5.	Hasil Isolasi Sampel	21
6.	Hasil Kontrol Positif Kit API 20E	22



DAFTAR GAMBAR

No.	Nama Gambar	Halaman
1.	Morfologi <i>Shigella</i>	10
2.	Hasil Positif Kit API 20E	14
3.	Hasil Negatif Kit API 20E	14
4.	Sampel Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia.....	35
5.	Hasil Homogenisasi Sampel	35
6.	Hasil Pengayaan Sampel	35
7.	Hasil Isolasi Sampel	36
8.	Hasil Blangko Agar	36
9.	Hasil Isolasi Kontrol Positif.....	37
10.	Hasil Uji Biokimia Kontrol Positif Sebelum Inkubasi.....	37
11.	Hasil Uji Biokimia Kontrol Positif Setelah Inkubasi.....	37



DAFTAR LAMPIRAN

No.	Nama Lampiran	Halaman
1.	Skema Kerja Identifikasi <i>Shigella</i> dalam Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia	32
2.	Jadwal Penelitian Identifikasi <i>Shigella</i> dalam Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia	33
4.	Daftar Bahan dan Jumlah yang Digunakan	34
5.	Gambar Hasil Penelitian Identifikasi <i>Shigella</i> dalam Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia	35
6.	Hasil Kit API 20E Kontrol Positif	38



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara yang memiliki kekayaan hayati cukup besar terutama untuk obat tradisional yang merupakan bahan atau ramuan, bahan berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian atau galenik, atau campuran dari bahan tersebut¹.

Obat Tradisional (OT) merupakan salah satu warisan budaya bangsa Indonesia yang telah digunakan selama berabad-abad untuk pemeliharaan dan peningkatan kesehatan serta pencegahan dan pengobatan penyakit. Berdasarkan bukti secara turun temurun dan pengalaman (empiris), OT hingga kini masih digunakan oleh masyarakat di Indonesia dan di banyak negara lain. Sebagai warisan budaya bangsa yang telah terbukti banyak memberi kontribusi pada pemeliharaan kesehatan².

Obat tradisional Indonesia telah dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat dalam menjaga kesehatan dan mengobati penyakit yang diderita. Nenek moyang bangsa Indonesia telah mewariskan banyak obat-obatan yang telah teruji khasiatnya dan tetap lestari hingga saat ini dengan didukung oleh pembuktian ilmiah melalui uji pra-klinik dan uji klinik. Penggunaan obat tradisional di masyarakat memiliki kecenderungan untuk kembali ke alam dengan memanfaatkan berbagai tanaman obat, karena obat sintesis dirasakan terlalu mahal serta efek samping yang cukup besar sehingga konsumsi obat tradisional di Indonesia cenderung semakin meningkat dari tahun ke tahun. Selain itu juga peningkatan produksi tanaman obat dari tahun ke tahun terus mengalami peningkatan¹.

Bentuk sediaan obat tradisional dapat berupa bentuk sediaan padat, cair, maupun semi padat. Beberapa bentuk sediaan obat tradisional Indonesia yang banyak beredar dimasyarakat antara lain bentuk rajangan, serbuk, pil, dodol atau jenang, pastiles, kapsul, tablet, cairan obat dalam, cairan obat luar, sari jamu, salep atau krim, koyok, parem, pilis dan tapel¹.

Bentuk sediaan obat tradisional yang salah satunya dapat dijumpai di masyarakat adalah serbuk simplisia. Serbuk simplisia adalah sediaan obat

tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari simplisia atau campuran dengan ekstrak yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas³.

Bahan baku sediaan obat tradisional umumnya berasal dari bahan tumbuh-tumbuhan atau bagian tumbuhan. Bahan-bahan tersebut dapat terkontaminasi mikroba selama proses penanaman, pengeringan, atau penyimpanan sehingga dapat mencemari simplisia. Produk yang tercemar mikroba tersebut dapat memproduksi racun yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit. Pengujian cemaran mikroba dalam sediaan obat tradisional meliputi angka lempeng total (ALT), uji angka kapang/khamir (AKK), uji cemaran mikroba patogen seperti *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Shigella* spp.⁴.

Infeksi akibat *Shigella* pada manusia dikenal sebagai shigellosis. Shigellosis merupakan penyakit infeksi saluran pencernaan yang ditandai dengan diare cair akut dan/ atau disentri (tinja bercampur darah, lender dan nanah), pada umumnya disertai demam, nyeri perut dan tenesmus⁵.

Berdasarkan hal tersebut di atas maka penulis tertarik untuk mengidentifikasi *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia.

1.2 Perumusan Masalah

Pembuatan obat tradisional yang tidak sesuai dengan Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB), serta penyimpanan obat tradisional yang kurang steril memungkinkan masih adanya cemaran mikroba patogen dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia. Hal ini menimbulkan masalah bahwa obat tradisional sediaan serbuk simplisia menjadi tidak aman untuk dikonsumsi oleh masyarakat.

1.3 Pembatasan Masalah

Pengujian mutu secara mikrobiologi terhadap obat tradisional sediaan serbuk simplisia terdiri dari beberapa parameter yang tertera dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 32 Tahun 2019 meliputi Angka Lempeng Total (ALT), Angka Kapang Khamir (AKK), *Escherichia coli*, Angka

Enterobacteriaceae, *Clostridia*, *Salmonella* dan *Shigella*. Dalam penelitian ini penulis membatasi pada parameter uji *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia.

1.4 Tujuan

1.4.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya cemaran mikroba patogen *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia.

1.4.2 Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia dan mengetahui apakah obat tradisional yang diuji telah memenuhi persyaratan mutu mikrobiologi khususnya pada cemaran mikroba patogen *Shigella* sesuai dengan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019.

1.5 Manfaat

1.5.1 Bagi Mahasiswa

Memberikan manfaat bagi mahasiswa untuk mengaplikasikan ilmu yang telah diperoleh selama pendidikan dan memberikan gambaran cara kerja dan metode analisa yang tepat untuk mengidentifikasi *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia.

1.5.2 Bagi Masyarakat

Karya tulis ilmiah ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi bagi pembaca apabila obat tradisional yang dikonsumsi tercemar oleh mikroba patogen *Shigella* dapat menyebabkan penyakit yang berbahaya bagi kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

2.1.1 Obat Tradisional

Industri obat tradisional harus membuat obat tradisional sedemikian rupa agar sesuai dengan tujuan penggunaannya, memenuhi persyaratan yang tercantum dalam dokumen izin edar (registrasi) dan tidak menimbulkan risiko yang membahayakan penggunaannya karena tidak aman, mutu rendah atau tidak efektif. Untuk mencapai tujuan mutu secara konsisten, diperlukan sistem pemastian mutu yang didesain secara menyeluruh dan diterapkan secara benar melalui Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB) dalam bidang Pengawasan Mutu dan Manajemen Risiko Mutu⁶.

Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB) merupakan pedoman cara pembuatan obat tradisional yang meliputi seluruh aspek pembuatan obat tradisional mulai dari sistem manajemen mutu, personalia, bangunan, peralatan, sanitasi dan higiene, penyiapan bahan baku, pengolahan dan pengemasan, pengawasan mutu, inspeksi diri, dokumentasi hingga penanganan terhadap hasil pengamatan produk jadi obat tradisional dalam peredarannya di masyarakat. CPOTB bertujuan untuk menjamin agar produk obat tradisional yang dihasilkan senantiasa memenuhi persyaratan mutu yang telah ditentukan sesuai dengan tujuan penggunaannya, meningkatkan nilai tambah dan daya saing produk obat tradisional, serta dipahaminya CPOTB dan para pelaku usaha industri di bidang obat tradisional termasuk industri kecil obat tradisional bermanfaat bagi perkembangan industri di bidang obat tradisional¹.

Menurut peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (Badan POM) Indonesia, obat bahan alam di Indonesia atau yang lebih dikenal dengan obat tradisional dikelompokkan menjadi tiga golongan yakni jamu, obat herbal terstandar dan fitofarmaka. Jamu adalah ramuan dari bahan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran bahan tersebut yang secara turun menurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Jamu sebagai warisan budaya bangsa harus tetap dilestarikan dengan fokus utama pada aspek mutu dan

keamanan (*safety*) dengan khasiat jamu sebagai obat tradisional didasarkan pada pengalaman empirik yang telah berlangsung dalam kurun waktu yang sangat lama. Obat herbal terstandar adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinis, dan bahan bakunya telah terstandarisasi. Sedangkan fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinis dengan hewan percobaan dan telah melalui uji klinis pada manusia serta bahan baku dan produknya telah distandardisasi¹.

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat⁷.

Persyaratan mutu obat tradisional berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019 bahwa obat tradisional memiliki beberapa bentuk sediaan yaitu sebagai berikut:

A. Obat Dalam

1. Rajangan adalah sediaan obat tradisional berupa satu jenis simplisia atau campuran beberapa jenis simplisia, yang cara penggunaannya dilakukan dengan pendidihan atau penyeduhan dengan air panas.
2. Serbuk adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari simplisia atau campuran dengan ekstrak yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas.
3. Sediaan Lainnya
 - a) Serbuk instan adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari ekstrak yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas atau dilarutkan dalam air dingin.
 - b) Granul adalah sediaan obat tradisional berupa butiran terbuat dari ekstrak yang telah melalui proses granulasi yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas atau dilarutkan dalam air dingin.
 - c) Pil adalah sediaan padat obat tradisional berupa masa bulat, terbuat dari serbuk simplisia dan/atau ekstrak.
 - d) Kapsul adalah sediaan obat tradisional yang terbungkus cangkang keras.

- e) Kapsul lunak adalah sediaan obat tradisional yang terbungkus cangkang lunak.
- f) Tablet/kaplet adalah sediaan obat tradisional padat kompak, dibuat secara kempa cetak, dalam bentuk tabung pipih, silindris, atau bentuk lain, kedua permukaannya rata atau cembung.
- g) Efervesen adalah sediaan padat obat tradisional, terbuat dari ekstrak dan/atau simplisia tertentu, mengandung natrium bikarbonat dan asam organik yang menghasilkan gelembung gas (karbon dioksida) saat dimasukkan ke dalam air.
- h) Pastiles adalah sediaan padat obat tradisional berupa lempengan pipih, umumnya berbentuk segi empat, terbuat dari serbuk simplisia dan/atau ekstrak.
- i) Dodol/jenang adalah sediaan padat obat tradisional dengan konsistensi lunak tetapi liat, terbuat dari serbuk simplisia dan/atau ekstrak.
- j) Film strip adalah sediaan padat obat tradisional berbentuk lembaran tipis yang digunakan secara oral.
- k) Cairan obat dalam adalah sediaan obat tradisional berupa minyak, larutan, suspensi atau emulsi, terbuat dari serbuk simplisia dan/atau ekstrak dan digunakan sebagai obat dalam.

B. Obat Luar

1. Sediaan Cair

- a) Cairan obat luar adalah sediaan obat tradisional berupa minyak, larutan, suspensi atau emulsi, terbuat dari simplisia dan/atau ekstrak dan digunakan sebagai obat luar.
- b) Losio adalah sediaan cairan obat tradisional mengandung serbuk simplisia, eksudat, ekstrak, dan/atau minyak yang terlarut atau terdispersi berupa suspensi atau emulsi dalam bahan dasar losio dan ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit.
- c) Parem adalah sediaan padat atau cair obat tradisional, terbuat dari serbuk simplisia dan/atau ekstrak dan digunakan sebagai obat luar.

2. Sediaan Semi Padat

- a) Salep adalah sediaan obat tradisional setengah padat terbuat dari ekstrak yang larut atau terdispersi homogen dalam dasar salep yang sesuai dan ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit.
- b) Krim adalah sediaan obat tradisional setengah padat mengandung satu atau lebih ekstrak terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar krim yang sesuai dan ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit.
- c) Gel adalah sediaan obat tradisional setengah padat mengandung satu atau lebih ekstrak dan/atau minyak yang terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar gel dan ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit.

3. Sediaan Padat

- a) Parem adalah sediaan padat atau cair obat tradisional, terbuat dari serbuk simplisia dan/atau ekstrak dan digunakan sebagai obat luar.
- b) Serbuk obat luar adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari simplisia atau campuran dengan ekstrak yang cara penggunaannya dicampur dengan bahan cair (minyak/air) yang sesuai dan digunakan sebagai obat luar kecuali luka terbuka.
- c) Pilis adalah sediaan padat obat tradisional, terbuat dari serbuk simplisia dan/atau ekstrak dan digunakan sebagai obat luar yang digunakan di dahi dan di pelipis.
- d) Tapel adalah sediaan padat obat tradisional, terbuat dari serbuk simplisia dan/atau ekstrak dan digunakan sebagai obat luar yang digunakan di perut.
- e) Plester adalah sediaan obat tradisional terbuat dari bahan yang dapat melekat pada kulit dan tahan air yang dapat berisi serbuk simplisia dan/atau ekstrak, digunakan sebagai obat luar dan cara penggunaannya ditempelkan pada kulit.
- f) Supositoria untuk wasir adalah sediaan padat obat tradisional, terbuat dari ekstrak yang larut atau terdispersi homogen dalam dasar supositoria yang sesuai, umumnya meleleh, melunak atau melarut pada suhu tubuh dan cara penggunaannya melalui rektal.

- g) Rajangan obat luar adalah sediaan obat tradisional berupa satu jenis simplisia atau campuran beberapa jenis simplisia, yang digunakan untuk obat luar⁷.

2.1.2 Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia

Bentuk sediaan obat tradisional yang salah satunya dapat dijumpai di masyarakat adalah serbuk simplisia. Serbuk simplisia adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari simplisia atau campuran dengan ekstrak yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas³.

Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019 tentang persyaratan keamanan mutu obat tradisional menyebutkan bahwa parameter pengujian obat tradisional sediaan serbuk yang diseduh dengan air panas sebelum digunakan adalah :

1. Organoleptik
2. Kadar air
3. Keseragaman bobot
4. Cemarkan mikroba
5. Aflatoksin total
6. Cemarkan logam berat
7. Bahan tambahan

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 32 Tahun 2019, persyaratan cemarkan mikroba pada obat tradisional sediaan serbuk yang diseduh dengan air panas sebelum digunakan adalah :

- | | |
|------------------------------------|---------------------------------|
| a. Angka Lempeng Total (ALT) | : $\leq 5 \times 10^7$ koloni/g |
| b. Angka Kapang Khamir (AKK) | : $\leq 5 \times 10^5$ koloni/g |
| c. <i>Escherichia coli</i> | : ≤ 10 koloni/g |
| d. Angka <i>Enterobacteriaceae</i> | : $\leq 10^3$ koloni/g |
| e. <i>Clostridia</i> | : negatif/g |
| f. <i>Salmonella</i> | : negatif/g |
| g. <i>Shigella</i> | : negatif/g |

2.1.3 *Shigella*

2.1.3.1 Definisi

Shigella adalah mikroba patogen usus yang dikenal sebagai agen penyebab penyakit disentri basiler. mikroba ini menginfeksi saluran pencernaan dan menyebabkan berbagai gejala, dari diare, kram, muntah, dan mual⁸.

Shigella spp. di bagi atas empat spesies, yaitu *S. dysenteriae* (subgroup A), *S. flexneri* (subgroup B), *S. boydii* (subgroup C), dan *S. sonnei* (subgroup D). Dari keempat spesies tersebut, manifestasi infeksi dari *S. dysenteriae* tipe 1 cukup parah karena *S. dysenteriae* menghasilkan toksin shiga. *S. dysenteriae* tipe 1 ini penyebab yang terlibat paling banyak dalam kasus-kasus shigellosis yang ada di Negara berkembang. Meskipun tidak selalu berlaku, tetapi *S. dysenteriae* tipe 1 telah menyebabkan sejumlah wabah epidemik besar di negara India. Di Negara maju dan Negara industri shigellosis didiagnosis lebih sering disebabkan oleh *Shigella sonnei*. Infeksi *Shigella* dianggap sangat menular karena dapat menyebar ke seluruh populasi⁹.

2.1.3.2 Shigellosis

Shigellosis disebut juga dengan disentri basiler, disentri artinya salah satu dari berbagai gangguan yang ditandai dengan peradangan usus, dan disertai nyeri perut, tenesmus dan buang air besar yang sering mengandung darah dan lendir. Habitat alamiah mikroba disentri adalah usus besar manusia, tempat mikroba tersebut dapat menyebabkan disentri basiler. Infeksi *S. dysenteriae* praktis selalu terbatas pada saluran pencernaan, dan invasi mikroba kedalam darah sangat jarang. *S. dysenteriae* menimbulkan penyakit yang sangat menular dengan dosis infeksi dari mikroba *S. dysenteriae* adalah kurang dari 10^3 organisme dan merupakan golongan *Shigella* yang cenderung resisten terhadap antibiotik⁸.

Fase diare dimungkinkan terjadi karena adanya produksi enterotoksin yang dihasilkan bakteri di dalam saluran usus kecil. Fase ini diikuti dengan adanya pengelupasan dan pelepasan mukosa pada organ sekitar kolon. *Shigella* dapat menembus ke dalam sel epitel yang melapisi usus besar, berkembang biak di dalam sel-sel ini, dan menyebar dari sel ke sel melalui mukosa. Tanda-tanda klinis shigellosis diketahui melalui tingkatan rasa sakit saat diare ringan hingga diare

berat. Bentuk-bentuk shigellosis yang paling parah disebabkan oleh strain *S. dysenteriae* sedangkan *S. sonnei* menyebabkan diare yang lebih ringan. Pada *S. fleksneri* dan *S. boydii* dapat menyebabkan tingkatan diare yang parah atau ringan. Terlepas dari parahnya gejala, disentri adalah penyakit yang dapat sembuh secara sendiri. Shigellosis biasanya tidak mengancam jiwa, tetapi terjadinya komplikasi mungkin dapat timbul pada pasien yang sangat muda dan sangat tua serta pada pasien yang memiliki individu kurang gizi¹⁰.

2.1.3.3 Morfologi

Shigella merupakan mikroba berbentuk batang dengan pengecatan Gram bersifat Gram negatif, tumbuh pada suasana anaerob dan fakultatif anaerob, tumbuh pada pH 6,4 – 7,8, dengan suhu 37 °C¹¹.



Gambar 1. Morfologi *Shigella*¹²

2.1.3.4 Klasifikasi

Kingdom : *Bacteria*
 Filum : *Proteobacteria*
 Kelas : *Gammaproteobacteria*
 Ordo : *Enterobacteriales*
 Famili : *Enterobacteriaceae*
 Genus : *Shigella*
 Species : *Shigella* spp.¹³

2.1.3.5 Fisiologi

Shigella adalah mikroba anaerob fakultatif tetapi tumbuh paling baik secara aerobik. Bentuk koloni cembung, bundar, transparan dengan tepi yang utuh mencapai diameter sekitar dua mm dalam kurun waktu 24 jam. Semua *Shigella* dapat memfermentasi glukosa. Dengan pengecualian *S. sonnei* tidak dapat memfermentasi laktosa. Ketidakmampuan *Shigella* untuk memfermentasi laktosa dapat dibedakan pada media diferensial. *Shigella* dapat membentuk asam dari karbohidrat tetapi jarang menghasilkan gas. *Shigella* juga dapat dibagi berdasarkan kemampuan dalam memfermentasi mannitol atau tidak yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Fisiologi *Shigella* spp.¹⁴

Present Designation	Group and Type	Mannitol	Ornithine Decarboxylase
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	B	+	-
<i>Shigella boydii</i>	C	+	-
<i>Shigella sonnei</i>	D	+	+

2.1.3.6 Epidemiologi

Manusia merupakan pejamu alamiah dari *Shigella*. Penyebaran dari mikroba ini umumnya terjadi orang ke orang (*person to person*) melalui kontak yang fekal-oral. Penyebaran langsung dari seseorang ke orang lainnya dimungkinkan karena mikroba ini telah dapat menimbulkan infeksi dalam jumlah yang kecil saja. Sekitar 10 sampai 100 organisme saja telah dapat menimbulkan penyakit pada 10-20 % subyek yang non-imun. Transmisi fekal-oral ini umumnya terjadi secara sekunder setelah kontaminasi awal dari tangan dengan tinja yang mengandung mikroba *Shigella* dan dipindahkan langsung ke mulut atau ke benda lain yang kemudian melalui orang lain berpindah ke mulut seseorang yang rentan penyakit. Spesies lalat tertentu, yaitu lalat dosmetik (*Musca domestica*) dapat pula memindahkan mikroba ke makanan atau minuman, lebih-lebih pada tempat-tempat di mana keadaan higiene kurang baik. Dengan demikian berbagai cara transmisi dapat secara efektif

menyebabkan terjadinya infeksi meskipun *Shigella* sendiri bukanlah termasuk organisme yang mampu untuk bertahan hidup lama di luar saluran cerna manusia¹⁵.

Laporan epidemiologi menunjukkan bahwa 600.000 dari 140 juta pasien shigellosis meninggal setiap tahun di seluruh dunia. Data di Indonesia memperlihatkan 29% kematian diare terjadi pada umur satu sampai empat tahun disebabkan oleh disentri basiler. Tingginya insidens dan mortalitas dihubungkan dengan status sosial ekonomi yang rendah, kepadatan penduduk, dan kebersihan yang kurang⁵.

2.1.3.7 Patogenesis

Habitat pada *Shigella* ini ada pada saluran pencernaan manusia. Mikroba tersebut dapat tumbuh subur di usus manusia. Mikroba *Shigella* dalam infeksiya melewati fase oral. Mikroba ini mampu mengeluarkan toksin *heat labile* (LT). Mikroba ini mampu menginvasi ke epitel sel mukosa usus halus, berkembang biak di daerah invasi tersebut. Lalu, mengeluarkan toksin yang merangsang terjadinya perubahan sistem enzim didalam sel mukosa usus halus. Akibat invasi mikroba ini, terjadi infiltrasi sel-sel polimorfonuklear dan menyebabkan matinya sel-sel epitel tersebut, sehingga terjadi tukak-tukak kecil di daerah invasi. Akibatnya, sel-sel darah merah dan plasma protein keluar bersama tinja lalu tinja bercampur lendir dan darah. Masa inkubasi berkisar satu sampai tujuh hari, yang paling umum yaitu sekitar empat hari. Pada penderita yang sehat sebelumnya diperlukan penyembuhan dalam waktu dua sampai tujuh, sedangkan pada penderita yang sangat muda atau tua dan juga pada penderita dengan gizi buruk penyakit ini akan berlangsung lama. Pernah ditemukan terjadinya septikemia pada penderita dengan gizi buruk dan berakhir dengan kematian. Gejala mula-mulanya yaitu demam dan kejang perut yang nyeri. Diare biasanya terjadi setelah 48 jam, diikuti oleh disentri dua hari kemudian¹⁶.

2.1.3.8 Isolasi

Untuk isolasi *Shigella*, dilakukan biakan secara langsung tanpa melalui biakan persemaian. Biakan persemaian untuk *Shigella* tidak dilakukan oleh karena tidak banyak membantu dalam menambah angka isolasi mikroba. Bahan

pemeriksaan ditanamkan pada media lempeng agar diferensial dan selektif yaitu agar *Mac Conkey* dan agar *Xylose lysine deoxycholate* atau agar *Mac Conkey* dan agar *Salmonella-Shigella*. Semua lempeng agar diinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 20-24 jam. Koloni-koloni yang tumbuh pada lempeng agar diseleksi sesuai dengan kriteria morfologi untuk *Shigella*¹⁵.

2.1.4 Analytical Profile Index 20E System

Analytical Profile Index 20E System (API 20E) adalah versi miniatur dari uji konvensional yang digunakan untuk mengidentifikasi kelompok famili *Enterobacteriaceae* dan bakteri Gram negatif lainnya. API 20E System dikembangkan oleh produk Analytab, Plainview, New York. Sistem ini menggunakan strip plastik dengan 20 kompartemen terpisah. Setiap kompartemen terdiri dari bagian dangkal atau *cupule*, dan tabung kecil yang berisi substrat yang telah dikeringkan¹⁷.

Sistem ini memiliki 20 kapasitas uji biokimia. Untuk menginokulasi setiap kompartemen diperlukan terlebih dahulu untuk membuat suspensi garam dari mikroba yang akan diidentifikasi, kemudian dengan pipet steril setiap kompartemen diisi dengan suspensi bakteri. Untuk menyediakan kondisi yang anaerob, beberapa kompartemen perlu ditambahkan *mineral oil* steril¹⁷.

Setelah diinkubasi selama 18-24 jam, reaksi dicatat, beberapa kompartemen ditambahkan reagen tes, dan hasil tes ditabulasikan. Setelah hasilnya ditabulasikan, profil angka (tujuh atau sembilan digit) dihitung. Kemudian akan didapatkan profil angka dalam kode buku *Analytical Profile Index* atau pada web perusahaan sehingga dapat menentukan nama organisme¹⁷.

Percobaan dilakukan dengan terlebih dahulu biakan sampel diinokulasikan ke dalam medium yang berisi 5 mL NaCl 0,85%. Strip API 20E terdiri dari 20 mikrotabung yang berisikan substrat yang telah dikeringkan. Strip API bertuliskan beberapa singkatan yang ditetaskan suspensi mikroba dalam NaCl. Singkatan yang bergaris bawah menunjukkan bahwa suspensi mikroba ditetaskan sebanyak setengah dari tinggi tabung dan ditambahkan *mineral oil* sampai tabung penuh, yaitu ADH, LDC, ODC, H₂S, dan URE. Singkatan yang berada di dalam kotak menunjukkan bahwa suspensi mikroba ditetaskan sampai tabung penuh, yaitu CIT,

VP, dan GEL, sedangkan singkatan yang tidak bergaris bawah maupun tidak berada di dalam kotak diisi dengan suspensi sampel sebanyak setengah dari tinggi tabung, yaitu ONPG, TDA, IND, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, dan ARA. Strip API 20E yang akan diinkubasi pada suhu 37 °C terlebih dahulu ditambahkan sedikit aquades agar kondisinya tetap lembab dan tidak kering karena suhu yang digunakan sebesar 37°C. Setelah diinkubasi selama 24 jam, reagen pelengkap ditambahkan sebanyak 1 tetes reagen JAMES pada tabung IND. Reagen TDA ditambahkan sebanyak satu tetes pada tabung TDA. Reagen VP 1 dan VP 2 ditambahkan masing-masing 1 tetes pada tabung VP. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan standar uji positif dan uji negatif dengan warna sampel, maka dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3¹⁸.



Gambar 2. Hasil Positif Kit API 20E¹⁸.



Gambar 3. Hasil Negatif Kit API 20E¹⁸.

2.2 Penelitian Relevan

Penelitian relevan sebelumnya yang sesuai dengan penelitian penulis adalah penelitian yang dilakukan oleh Anas Gilang Pratama (2019) dengan judul Identifikasi *Shigella* spp. dalam Obat Tradisional Sediaan Cairan Obat Dalam. Metode yang digunakan dalam penelitian ini berupa metode pengayaan, isolasi dan uji biokimia menggunakan kit API 20E dengan hasil penelitian yang menyatakan sampel negatif *Shigella* spp. Persamaan dengan penelitian ini adalah penggunaan metode uji biokimia yang menggunakan kit API 20E. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan penulis adalah sampel sediaan

obat tradisional yang diuji berupa sediaan cairan obat dalam sedangkan sampel sediaan yang diuji dalam penelitian yang dilakukan penulis adalah sediaan serbuk simplisia.



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada tanggal 3 sampai dengan 12 Maret 2020

3.1.2 Lokasi Penelitian

Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan di Jakarta, Jalan Raya Assyafiyah Nomor 133, Cilangkap, Cipayung, Jakarta Timur.

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Prinsip Penelitian

Menumbuhkan mikroba *Shigella sp* setelah cuplikan dan homogenisasi, diinokulasikan pada media pengayaan yang sesuai dan diisolasi menggunakan media selektif yang sesuai kemudian dilanjutkan dengan konfirmasi uji biokimia.

3.3 Prosedur Asli (Metode Analisa PPOMN)

3.3.1 Persiapan Sampel

3.3.1.1 Penanganan Wadah

Diperlukan alat-alat untuk persiapan sampel seperti gunting, spatula, pinset, dan lain-lain. Alat ini dapat disterilkan sesaat sebelum pengujian dengan pemanasan langsung.

1. Wadah terbuat dari plastik atau kertas

Bagian wadah yang akan dibuka dibersihkan dengan kapas beralkohol 70%.

Kemudian dibuka secara aseptik di dekat nyala api bunsen.

2. Wadah botol kaca

Sumbat atau tutup botol serta bagian yang akan dibuka dibersihkan dengan kapas beralkohol 70%, kemudian dibuka secara aseptik didekat nyala api bunsen.

3.3.2 Homogenisasi Sampel

1. Ditimbang sampel secara aseptik sebanyak 10 g di dalam wadah yang sesuai.
2. Tambahkan 90 mL Larutan Dapar Fosfat (LDF) pH 7,2, homogenkan dan inkubasikan pada suhu 30-37 °C selama 2-5 jam.

3.3.3 Pengayaan

1. Pipet 10 mL biakan ke dalam 90 mL *Enterobacteriaceae Enrichment Broth Mossel* (EEB).
2. Inkubasikan pada suhu 35-37 °C selama 18-24 jam.

3.3.4 Isolasi

1. Inokulasikan biakan hasil pengayaan dengan menggunakan sengkeli pada permukaan media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) dan *Mac Conkey Agar* (MCA).
2. Inkubasi pada suhu 35-37 °C selama 18-24 jam.
3. Amati adanya koloni spesifik yang tumbuh.
4. Biakan diduga positif *Shigella* jika pada media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) tumbuh koloni kecil, berwarna merah, diameter 1-2 mm dan pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) tumbuh koloni berbentuk konveks, tidak berwarna, 2-3 mm.

3.3.5 Konfirmasi Biokimia

1. Inokulasikan sedikitnya 2-5 koloni dari masing-masing media lempeng *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) dan *Mac Conkey Agar* (MCA) pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA)/ *Nutrient Agar* (NA).
2. Inkubasikan pada suhu 35-37 °C selama 24 jam.
3. Konfirmasi biokimia dilakukan dengan memilih salah satu uji.

a. Konfirmasi Konvensional

1) Pemeriksaan mikroskopis

Lakukan pewarnaan Gram dan diamati dengan mikroskop. *Shigella* merupakan mikroba Gram negatif berbentuk batang.

2) Uji pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

1. Inokulasi biakan *Tryptic Soy Agar* (TSA)/ *Nutrient Agar* (NA) miring pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) menggunakan sengkeli dengan cara gores dan tusuk.
2. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, *Shigella* menghasilkan warna merah pada bagian permukaan (*slant*) dan warna kuning tanpa gas pada bagian dasar (*butt*) tanpa gas.

3) Uji pada media *Kligler Iron Agar* (KIA)

1. Inokulasi biakan *Tryptic Soy Agar* (TSA)/ *Nutrient Agar* (NA) miring pada media *Kligler Iron Agar* (KIA) menggunakan sengkeli dengan cara gores dan tusuk.
2. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, *Shigella* menghasilkan warna merah pada bagian permukaan (*slant*) dan warna kuning tanpa gas pada bagian dasar (*butt*) tanpa gas.

b. Uji biokimia dengan kit API 20E atau RaPID ONE atau kit identifikasi lain yang sesuai

Dilakukan pengujian sesuai dengan petunjuk penggunaan uji kit API 20E.

3.3.6 Kontrol Positif

1. Inokulasikan biakan baku *Shigella Sonnei* ATCC 9290 menggunakan sengkeli pada permukaan media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) dan *Mac Conkey Agar* (MCA).
2. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.
3. Amati hasil kontrol positif dengan adanya koloni spesifik yang tumbuh.
4. Biakan Positif *Shigella* menunjukan koloni pada media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) tumbuh koloni kecil, berwarna merah, diameter 1-2 mm dan pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) tumbuh koloni berbentuk konveks, tidak berwarna, 2-3 mm.

3.3.7 Kontrol Negatif

1. Dituang media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) dan *Mac Conkey Agar* (MCA) sebanyak ± 10 mL ke cawan petri.

2. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.
3. Amati hasil kontrol negatif.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pengujian ini yaitu, *Biosafety Cabinet* (BSC) merk *ESCO Type AHC 14A1*, Timbangan merk *Mettler Toledo ML 6002*, Oven merk *Memmert UN 750*, Hotplate merk *Thermolyne Cimarec 3*, Waterbath merk *Memmert WNB 22*, Inkubator merk *Memmert INE-800*, Autoclave merk *Hiramaya HVA 110*, pH meter merk *Mettler Toledo*, *Innoculating loop*, pinset, botol semprot, *beaker glass*, pipet ukur steril, pipet *controller*, pipet tetes, cawan petri, gunting, gelas ukur, spatel, pipet tetes steril, tabung reaksi, rak tabung reaksi, rak cawan petri.

3.4.2 Bahan

3.4.2.1 Data Sampel

Tabel 2. Data Sampel Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia

No.	Keterangan	Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3
1.	Nama	Serbuk 80	Serbuk 81	Serbuk 82
2.	Keadaan Sampel	“ Tersegel”	“ Tersegel”	“ Tersegel”
3.	Tanggal Kadaluarsa	April 2022	November 2021	Juli 2021
4.	Nomor Registrasi	BPOM RI TR XXX	BPOM RI TR XXX	BPOM RI TR XXX
5.	Produksi	PT “X”	PT “Y”	PT “Y”
6.	Pemerian - Bentuk - Bau - Warna - Rasa	Serbuk Khas Kuning Pahit	Serbuk Khas Kuning Pahit	Serbuk Khas Kuning Pahit

3.4.2.2 Data Baku

Baku yang digunakan adalah biakan *Shigella Sonnei American Type Culture Collection* (ATCC) 9290.

3.4.2.3 Data Preaksi dan Media

Preaksi yang diperlukan dalam pengujian ini adalah Aquadest, Alkohol 70%, Aseton, HCl 1 N, Larutan *Buffer* pH 4,00, Larutan *Buffer* pH 7,00, Larutan *Buffer* pH 9,00, *James, Voges Proskauer* 1 (VP 1), *Voges Proskauer* 2 (VP 2), dan *Tryptophane Deaminase* (TDA). Sedangkan media yang diperlukan adalah Larutan Dapar Fospat pH 7,2 (LDF pH 7,2), *Enterobacteriaceae Enrichment Broth Mossel* (EEB), *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) Agar, *Mac Conkey Agar* (MCA), *Tryptic Soy Agar* (TSA)/*Nutrient Agar* (NA), Kit API 20E.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Data Penelitian

4.1.1.1 Data Homogenisasi

Tabel 3. Hasil Homogenisasi Sampel

Keterangan	Media	Hasil Pengamatan
Serbuk “80”	LDF pH 7,2	Keruh
Serbuk “81”		Keruh
Serbuk “82”		Keruh

4.1.1.2 Data Pengayaan

Tabel 4. Hasil Pengayaan Sampel

Keterangan	Media	Hasil Pengamatan
Serbuk “80”	EEB	Keruh
Serbuk “81”		Keruh
Serbuk “82”		Keruh

4.1.1.3 Data Isolasi

Tabel 5. Hasil Isolasi Sampel

Keterangan	Media	Hasil Pengamatan
Serbuk “80”	MCA	Koloni konveks, merah muda
	XLD	Koloni rata, putih
Serbuk “81”	MCA	Koloni konveks, merah muda
	XLD	Koloni rata, kuning kecoklatan
Serbuk “82”	MCA	Koloni konveks, merah muda
	XLD	Koloni konveks, kuning kecoklatan
Kontrol Positif	MCA	Koloni konveks, tidak berwarna
	XLD	Koloni kecil-kecil, merah
Kontrol Negatif	MCA	Koloni tidak tumbuh
	XLD	Koloni tidak tumbuh

4.1.1.4 Data API 20E

Tabel 6. Hasil Kontrol Positif Kit API 20E

Kode	Nama	Kontrol Positif	
		Warna	Hasil (+) atau (-)
ONPG	β -Galactosidase	Kuning	(+)
ADH	Arginine dihydrolase	Kuning	(-)
LDC	Lysine decarboxylase	Kuning	(-)
ODC	Ornithine decarboxylase	Merah	(+)
CIT	Citrate	Hijau pucat	(-)
H ₂ S	Hydrogen sulfide	Tidak berwarna	(-)
URE	Urease	Kuning	(-)
TDA	Tryptophan deaminase	Kuning	(-)
IND	Indole	Tidak berwarna	(-)
VP	Acetone	Tidak berwarna	(-)
GEL	Gelatin	Tidak ada difusi	(-)
GLU	Glukosa	Kuning	(+)
MAN	Manitol	Kuning	(+)
INO	Inositol	Biru	(-)
SOR	Sorbitol	Biru	(-)
RHA	Rhamnose	Kuning	(+)
SAC	Sucrose	Biru	(-)
MEL	Melibiose	Biru	(-)
AMY	Amygdalin	Biru	(-)
ARA	Arabinose	Kuning	(+)

4.2 Pernyataan Hasil

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan pada sampel “80”, sampel “81”, sampel “82”, dan kontrol positif dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Sampel “80” : negatif *Shigella*/g
2. Sampel “81” : negatif *Shigella*/g
3. Sampel “82” : negatif *Shigella*/g
4. Kontrol positif : positif *Shigella*/g
5. Kontrol Negatif : negatif *Shigella*/g

4.3 Persyaratan

Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019 tentang persyaratan keamanan dan mutu

obat tradisional bahwa obat tradisional tidak boleh mengandung *Shigella* (Negatif/g).

4.4 Pembahasan

Pengujian *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia terdiri dari empat tahap pengujian yaitu homogenisasi, pengayaan, isolasi dan konfirmasi biokimia. Pengujian dilakukan terhadap sampel dan disertai kontrol positif sebagai pembanding sehingga dapat diketahui mikroba yang terdapat pada sampel merupakan benar *Shigella* apabila terdapat pertumbuhan mikroba yang spesifik dapat dilihat dan dibandingkan dengan kontrol positif sehingga dapat memperkuat praduga dalam pengujian *Shigella*.

Persiapan sampel sebelum diuji, wadah yang digunakan berupa botol kaca yang berisi media Larutan Darap Fosfat pH 7,2 sebanyak 90 mL yang telah disterilisasi. Sampel ditimbang sebanyak 10 g dan dimasukkan kedalam botol kaca secara aseptik yaitu berada dekat dengan nyala api bunsen. Dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 30-37 °C selama 2-5 jam.

Pada homogenisasi sampel digunakan Larutan Darap Fosfat pH 7,2 yang mengandung kalium dihydrogen phospat dan natrium hidroksida. Umumnya mikroba memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam dalam metabolismenya sehingga akan mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Penggunaan Larutan Darap Fosfat pH 7,2 dimaksudkan untuk mencegah keadaan menjadi asam dalam budidaya mikroba sehingga dapat dipertahankan pH pada kondisi pertumbuhan *Shigella*. Mikroba patogen tumbuh paling baik dengan suhu mendekati suhu tubuh manusia yaitu 37 °C. Mikroba mesofil ini tumbuh paling baik pada suhu 25-40 °C.

Setelah diinkubasi selama 2-5 jam diperoleh hasil sampel pada media keruh. Homogenisasi sampel sebagai tahap pendahuluan dalam pengujian ini berguna untuk membebaskan sel mikroba yang mungkin terlindung partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi mikroba sebaik mungkin¹⁹.

Dilakukan tahap pengayaan dengan melakukan pemipetan menggunakan pipet ukur steril sebanyak 10 mL biakan dari media Larutan Darap Phospat pH 7,2 ke dalam 90 mL media *Enterobacteriaceae Enrichment Broth Mossel* (EEB) kemudian diinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 18-24 jam. Media *Enterobacteriaceae Enrichment Broth* (EEB) mengandung *pancreatic digest of*

gelatin, glucose monohydrate, dehydrated ox-bile, disodium hydrogen phosphphate dehydrate, potassium dihydrogen phosphphate, brilliant green, pancreatic digest of gelatin, dan *glucose monohydrate* yang menjadi nutrisi pertumbuhan kebanyakan dari kelompok *Enterobacteriaceae*. *Brilliant green* dan *dehydrated ox-bile* berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroba Gram positif. Kandungan fosfat berperan sebagai buffer yang baik dan menetralisasi produksi asam dari fermentasi laktosa yang akan mempengaruhi pertumbuhan organisme²⁰.

Umumnya digunakan media cair pada tahap pengayaan yang berguna untuk memberikan pertumbuhan mikroba dengan populasi yang banyak karena pada media ini mikroba lain juga dapat tumbuh, maka dapat ditambahkan inhibitor untuk mencegah dan menghambat pertumbuhan mikroba lain dan dilanjutkan dengan menumbuhkan kembali mikroba ke dalam media selektif atau differensial¹⁹.

Pengujian dilanjutkan ke tahap isolasi dengan menggunakan media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) Agar dengan cara menggoreskan satu sengkeli biakan dari media pengayaan *Enterobacteriaceae Enrichment Broth Mossel* (EEB) ke atas permukaan masing-masing media agar kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35-37 °C. Tujuan dari tahap isolasi adalah agar setiap koloni yang akan diidentifikasi diperoleh koloni yang spesifik. Koloni spesifik dapat diperoleh dengan menggunakan media selektif yang memungkinkan untuk mengisolasi koloni mikroba yang diinginkan berdasarkan pada karakter biokimia dari mikroba yang akan mempengaruhi sifat pertumbuhan mikroba pada suatu media spesifik¹⁹. Pada tahap isolasi ini digunakan dua media yang berbeda karena keduanya merupakan media selektif dan differensial untuk *Shigella* sehingga dapat dijadikan faktor koreksi dalam pertumbuhan isolasi terhadap koloni spesifik.

Media selektif mengandung zat yang menghambat pertumbuhan organisme tertentu tanpa menghambat pertumbuhan organisme yang diinginkan²¹. Sedangkan media differensial mengandung komponen kimia atau pewarna yang pada waktu inokulasi dan inkubasi menghasilkan perubahan yang khusus pada kenampakan pertumbuhan mikroba dan atau perubahan medium disekeliling koloni yang dapat membedakan satu dengan yang lain²².

Mac Conkey agar (MCA) merupakan media selektif dan diferensial yang digunakan untuk menumbuhkan *Enterobacteriaceae* dan mikroba batang Gram negatif serta membedakan mikroba yang *lactose fermenter* dan *non-lactose fermenter*²³. *Mac Conkey agar* (MCA) mengandung pepton, laktosa, NaCl, pepton yang dipecah proteosa, garam empedu, indikator merah netral, kristal violet, dan agar²². Pada medium ini mikroba yang memfermentasi laktosa akan menghasilkan asam sehingga koloni mikroba akan berwarna merah, sedangkan bakteri yang tidak memfermentasi laktosa tidak menghasilkan asam sehingga koloni mikroba yang tumbuh pada medium ini tidak berwarna. Produksi asam dari fermentasi laktosa menyebabkan indikator *neutral red* diserap ke dalam koloni sehingga menghasilkan warna merah sedangkan pada koloni mikroba *non-lactose fermenter* akan menghasilkan warna transparan atau tidak berwarna (*colorless*). Namun demikian, beberapa mikroba batang Gram negatif dapat tidak tumbuh pada media ini, sedangkan sejumlah kecil mikroba batang Gram positif seperti *Enterococcus* spp. dapat tumbuh dengan koloni yang kecil²³. Dengan demikian *Mac Conkey agar* (MCA) dapat dikatakan selektif untuk mikroba batang Gram negatif karena MCA mengandung zat yang menghambat pertumbuhan mikroba batang Gram positif. *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) merupakan media selektif dan diferensial yang digunakan untuk mengisolasi mikroba *Shigella* spp. dan *Salmonella* spp.²⁴. *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) mengandung *yeast extract*, *sodium chloride*, *xylose*, *lactose*, *sucrose*, *L-Lysine hydrochloride*, *sodium thiosulphate*, *iron (III) ammonium citrate*, *phenol red*, *sodium deoxycholate* dan *agar*⁹. Garam *Deoxycholate* berfungsi untuk menghambat mikroba batang Gram negatif yang bukan merupakan patogen enterik dan untuk menghambat pertumbuhan mikroba Gram positif. Indikator *phenol red* berfungsi untuk mendeteksi peningkatan keasaman dari fermentasi karbohidrat (*lactose*, *xylose*, *sucrose*). Mikroba patogen enterik seperti *Shigella* pada jenis *Shigella sonnei* tidak dapat memfermentasi laktosa, sehingga koloni yang dihasilkan tidak berwarna²⁴. Media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) agar dalam pembuatan media tidak dilakukan sterilisasi melainkan dibuat dengan menggunakan air steril sebagai pelarut media dan dibuat secara aseptik. Hal ini disebabkan adanya senyawa pada media tersebut yang tidak tahan pada suhu yang tinggi sehingga dapat merusak

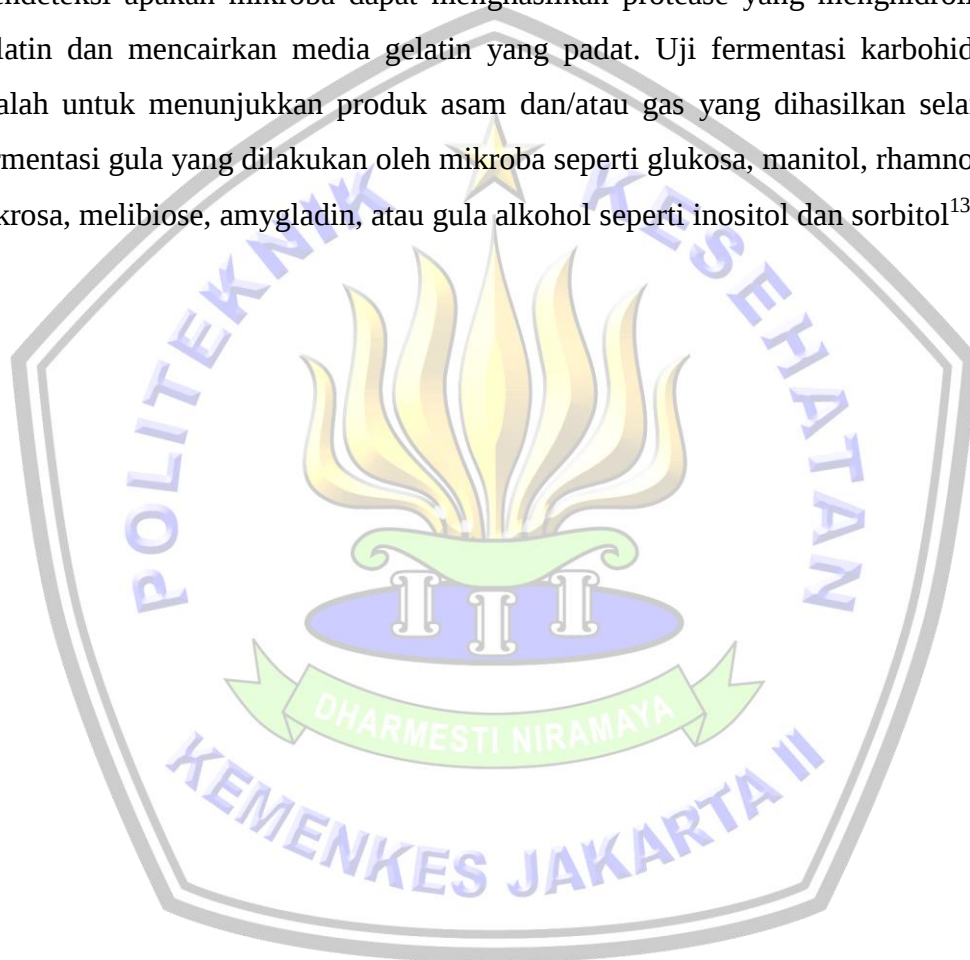
nutrisi yang terkandung. Berdasarkan hasil isolasi dari kedua media selektif diferensial tidak diperoleh pertumbuhan koloni spesifik *Shigella* dari sampel yang diuji sehingga pengujian tidak dilanjutkan ke tahap uji konfirmasi kit API 20E.

Pada kontrol positif *Shigella* terdapat koloni spesifik yang tumbuh di media selektif diferensial kemudian dilanjutkan tahap uji konfirmasi menggunakan kit API 20E. Dipilih satu koloni spesifik kontrol positif dari salah satu media kemudian diinokulasi ke dalam larutan steril NaCl 0.85% menggunakan *inoculating loop*, kemudian biakan kontrol positif diinokulasikan ke dalam masing-masing *microtube* API 20E menggunakan pipet steril melalui dinding kemudian diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 18-24 jam¹⁸.

Analytical Index Profile (API) 20E adalah serangkaian uji biokimia yang spesifik untuk membedakan antara kelompok famili *Enterobacteriaceae* mikroba batang Gram negatif. API 20E juga berguna untuk identifikasi bakteri secara cepat dan relevan. Sistem API 20E terdiri dari 20 tabung reaksi kecil yang mengandung substrat terdehidrasi untuk mendeteksi fermentasi enzimatis gula dengan isolat uji. Fermentasi ini terjadi selama inkubasi dan perubahan pH yang dihasilkan dapat terdeteksi oleh suatu indikator. Perlu dilakukan terlebih dahulu uji oksidase untuk mengkonfirmasi bahwa kultur yang diuji merupakan *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* merupakan oksidase negatif. Untuk mengetahui hasil tes mikroba yang diidentifikasi dapat menggunakan basis data secara *online*²⁵.

Pada uji konfirmasi kit API 20E terdapat beberapa uji yang tersedia pada masing-masing *microtube* yang berguna untuk mengetahui kemampuan biokimia suatu mikroba tertentu. Uji *O-Nitrophenyl-β-D-galactopyranoside* (ONPG) adalah uji untuk menunjukkan adanya enzim *β-galactosidase* yang dapat memecah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Uji *decarboxylate* (*arginine*, *lysine*, *ornithine*) adalah uji dekarboksilasi asam amino yang melepaskan CO₂ dan amin. Uji *hydrogen sulfide* adalah uji yang digunakan untuk mendeteksi pembentukan hidrogen sulfida dari asam amino sistein oleh enzim desulfarase sistein. Uji *urease* berfungsi untuk mendeteksi enzim yang mampu mengubah urea menjadi NH₃ dan CO₂. Uji *indole* untuk mendeteksi produksi indol dari asam amino triptofan dengan penambahan pereaksi kovacs, *methyl red* adalah indikator pH untuk menentukan apakah mikroba melakukan fermentasi asam. Uji VP

(*Voges-Proskauer*) berfungsi untuk mendeteksi produksi asetoin dengan penambahan pereaksi VP 1 berupa KOH 40% dan VP 2 berupa α *naphtol*. Uji *citrate* berfungsi untuk menentukan apakah mikroba dapat atau tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon yang menghasilkan suasana alkali pada media. Uji *tryptophan deaminase* adalah uji untuk menunjukkan kemampuan enzim *tryptophan* untuk merombak asam amino *L-Tryptophan* menjadi asam *Indolepyruvic* dengan penambahan *Ferric Chloride*. Uji gelatin adalah untuk mendeteksi apakah mikroba dapat menghasilkan protease yang menghidrolisis gelatin dan mencairkan media gelatin yang padat. Uji fermentasi karbohidrat adalah untuk menunjukkan produk asam dan/atau gas yang dihasilkan selama fermentasi gula yang dilakukan oleh mikroba seperti glukosa, manitol, rhamnose, sukrosa, melibiose, amygladin, atau gula alkohol seperti inositol dan sorbitol¹³.



BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil pengujian identifikasi *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia pada sampel “80”, sampel “81” dan sampel “82” diperoleh hasil negatif *Shigella*, maka dapat disimpulkan bahwa sampel tersebut memenuhi syarat mutu secara mikrobiologi untuk parameter uji *Shigella* sesuai Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia tidak boleh mengandung *Shigella* (Negatif/g).

5.2 Saran

Metode pengujian yang dilakukan untuk identifikasi *Shigella* dalam obat tradisional sediaan serbuk simplisia sudah baik namun perlu dilakukan uji tambahan yaitu parameter lainnya seperti Angka Lempeng Total (ALT), Angka Kapang Khamir (AKK), *Escherichia coli*, Angka *Enterobacteriaceae*, *Clostridia*, dan *Salmonella* sesuai dengan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 32 Tahun 2019.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wasito, Hendri. Obat Tradisional Kekayaan Indonesia. Yogyakarta: Graha Ilmu; 2011.
2. Ditjen POM. Farmakope Herbal Indonesia. 1 ed. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2008.
3. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Jakarta: BPOM RI; 2014.
4. Pratiwi, Sylvia. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Penerbit Erlangga; 2008.
5. Nafianti, Selvi., Sinuhaji A. B. Resistensi Trimetoprim – Sulfametoksazol terhadap Shigellosis. 2005;7(1):39–44.
6. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.06.11.5629. Jakarta: BPOM RI; 2011.
7. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional. Jakarta: BPOM RI; 2019.
8. Brooks, G. F., Butel J. S & Morse S. A. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika; 2005.
9. Corry, J.E.L., Curtis G. D & Baird R. M. *Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology*. 3rd ed. UK: The Royal Society of Chemistry; 2012.
10. Lampel dan Maurelli. *Shigella Species* Chapter 11. Dalam: Miliotis MD, Bier JW, penyunting. *International Handbook Of Foodborne Pathogens*. New York: Marcel Dekker; 2003.
11. Utami, Yulian W., Anam K. Patomekanisme Infeksi Shigella Sebagai Dasar Pengembangan Vaksin Shigellosis. Malang: UB Press; 2019.
12. Aini, Fitratul. *Isolation and Identification of Shigella sp. Causes of Diarrhea in Toddlers*. 2018;04(1):7–12.
13. Willey, Joanne M., Linda M. Sherwood & Christopher J. Woolvierton. *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology Seventh Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies; 2008.

14. Brooks, G. F., Carroll K. C, Butel J. S, Morse S. A, Mietzner T.A. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology Twenty Sixth Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies; 2013.
15. Lesmana M. *Enterobacteriaceae: Salmonella & Shigella*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti; 2003.
16. Amaliyah N. *Penyehatan Makanan dan Minuman*. Yogyakarta: Deepublish; 2017.
17. Brown, Alfred E. *Benson's Microbiological Application Laboratory Manual in General Microbiology Complete Version 8 Edition*. United States America: The McGraw Hill Companies; 2001.
18. Biomerieux. *API 20E Identification System for Enterobacteriaceae and Non-Fastidious Gram-Negative Rods*. France: Biomerieux SA; 2010.
19. Badan Pengawas Obat dan Makanan. *Info POM Pengujian Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; 2008.
20. Himedia. *Enterobacteria Enrichment Broth Mossel*. India: Himedia Laboratories; 2016.
21. Engelkirk, P. G., Duben J. *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases*. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins; 2008.
22. Lestari, L. A., Harmayani E, Utami T, Sari P. S, Nurviani S. *Dasar-dasar Mikrobiologi Makanan di Bidang Gizi dan Kesehatan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2018.
23. Harsono, Setio. *Pemeriksaan Mikrobiologi pada Penyakit Infeksi*. Jakarta: CV Sagung Seto; 2015.
24. Tille, Patricia M. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology Fourteenth Edition*. South Dakota: Elsevier; 2017.
25. Samie, Amidou. *Escherichia coli: Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Application*. Croatia: Intech; 2017.

L

A

M

P

I

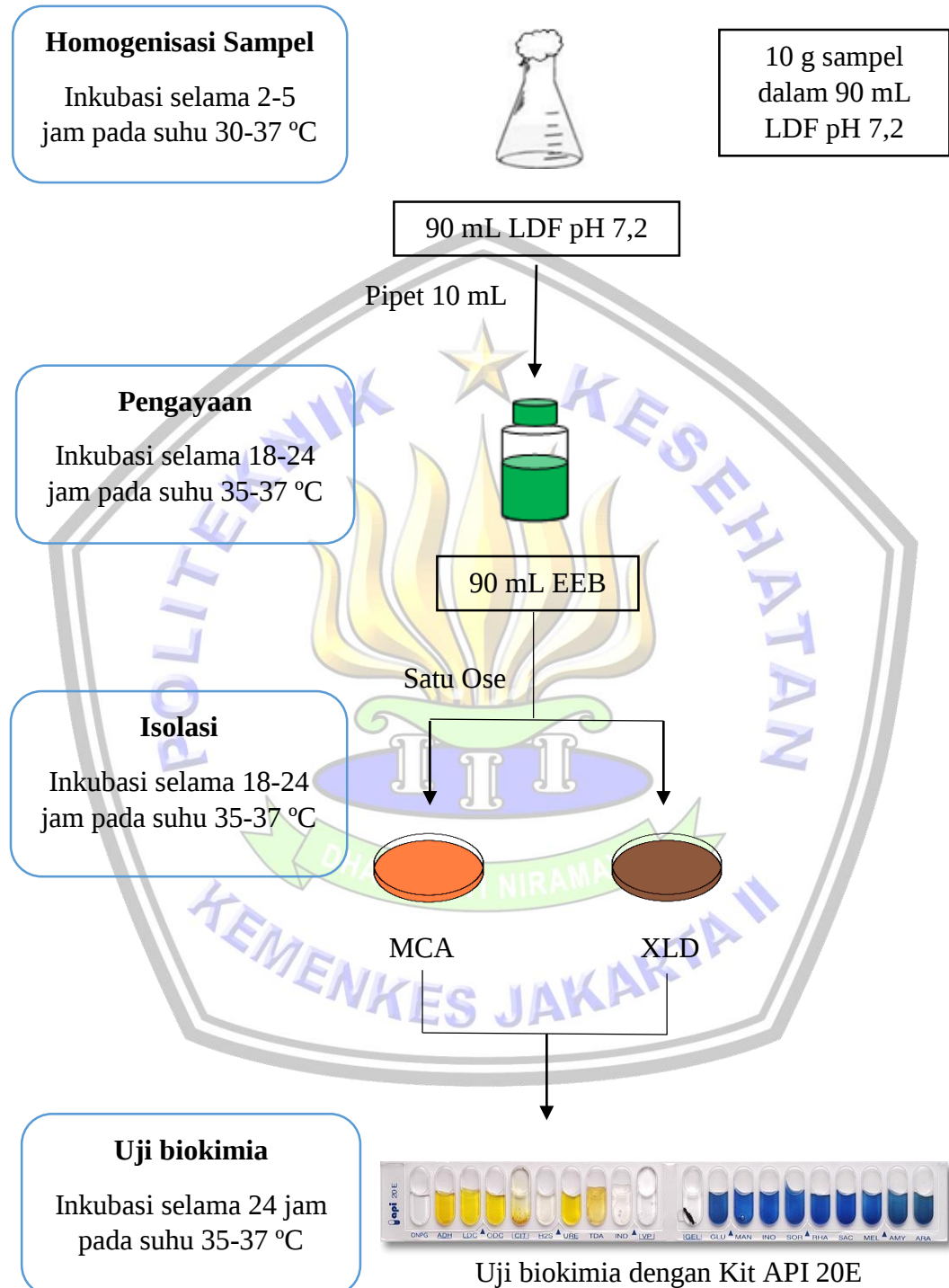
R

A

N



Lampiran 1. Skema Kerja Identifikasi *Shigella* dalam Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia



Lampiran 2. Jadwal Penelitian Identifikasi *Shigella* dalam Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia

Hari ke-	Kegiatan
Hari ke 1 3 Maret 2020	▪ Pembuatan media LDF pH 7,2, EEB, dan MCA ▪ Pembuatan air steril untuk media XLD ▪ Sterilisasi alat yang akan digunakan
Hari ke 2 4 Maret 2020	▪ Homogenisasi sampel menggunakan media LDF pH 7,2, diinkubasi selama 2-5 jam pada suhu 30-37 °C ▪ Setelah inkubasi, inokulasi pada media EEB dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 30-37 °C ▪ Pembuatan media XLD agar ▪ Destruksi media LDF pH 7,2
Hari ke 3 5 Maret 2020	▪ Inokulasi satu ose tiap sampel dari media EEB ke media MCA dan XLD agar, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 30-37°C ▪ Destruksi media EEB
Hari ke 4 6 Maret 2020	▪ Pengamatan pada media MCA dan XLD agar setelah 24 jam ▪ Dekstruksi media MCA dan XLD agar
Hari ke 5 9 Maret 2020	▪ Pembuatan media MCA dan XLD agar ▪ Sterilisasi alat yang akan digunakan
Hari ke 6 10 Maret 2020	▪ Inokulasi satu ose baku <i>Shigella</i> ke media MCA dan XLD agar sebagai kontrol positif, inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C ▪ Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C media MCA dan XLD agar sebagai blangko agar
Hari ke 7 11 Maret 2020	▪ Uji biokimia kontrol positif pada koloni yang spesifik menggunakan kit API 20E, inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C ▪ Pengamatan blangko agar pada media MCA dan XLD agar setelah 24 jam ▪ Dekstruksi media blangko agar
Hari ke 8 12 Maret 2020	▪ Pengamatan hasil kontrol positif pada uji biokimia menggunakan kit API 20E setelah 24 jam dan pembacaan profil menggunakan API web online ▪ Dekstruksi kit API 20E

Lampiran 3. Daftar Bahan dan Jumlah yang Digunakan

No.	Nama Bahan	Jumlah Kebutuhan
1.	Obat tradisional sediaan serbuk simplisia	3 jenis obat tradisional sediaan serbuk simplisia dalam 7 gram
2.	Larutan Dapar Fosfat pH 7,2 (LDF)	90 mL $\times$ 3 uji = 270 mL
3.	<i>Enterobacteriaceae</i> Enrichment Broth Mossel (EEB)	90 mL $\times$ 3 uji = 270 mL
4.	<i>Mac Conkey Agar</i> (MCA)	(20 mL $\times$ 3 uji = 60 mL) + 20 mL kontrol positif + 20 mL kontrol negatif Total = 100 mL
5.	<i>Xylose Lysine Deoxycholate</i> (XLD)	(20 mL $\times$ 3 uji = 60 mL) + 20 mL kontrol positif + 20 mL kontrol negatif Total = 100 mL
6.	Aquadest	270 mL + 270 mL + 100 mL + 100 mL = 740 mL
7.	NaCl steril 0,85 %	5 mL

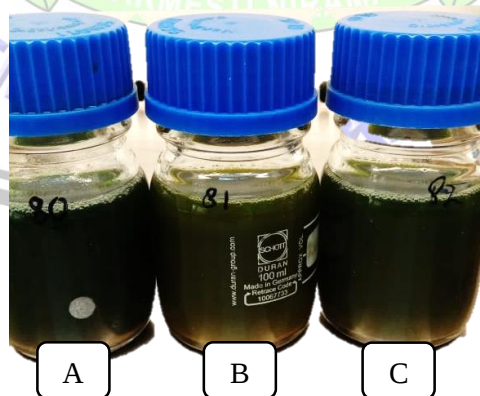
Lampiran 4. Gambar Hasil Penelitian Identifikasi *Shigella* dalam Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia



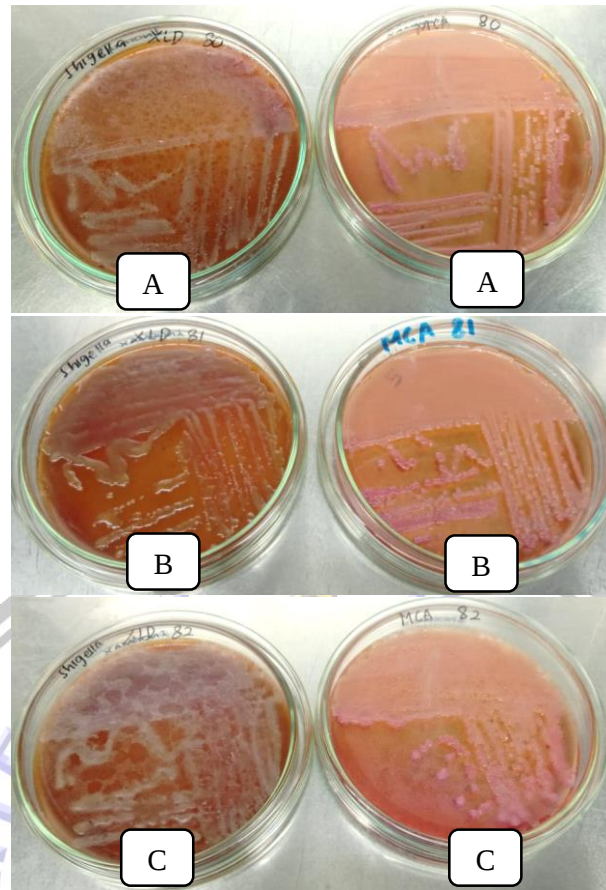
Gambar 4. Sampel Obat Tradisional Sediaan Serbuk Simplisia



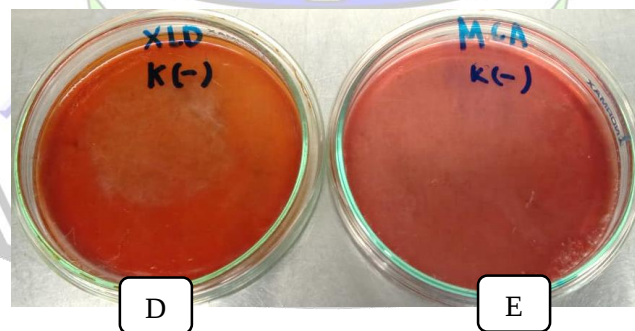
Gambar 5. Hasil Homogenisasi Sampel pada Media LDF pH 7,2 Setelah Diinkubasi pada Suhu 30-37 °C Selama 2-5 Jam



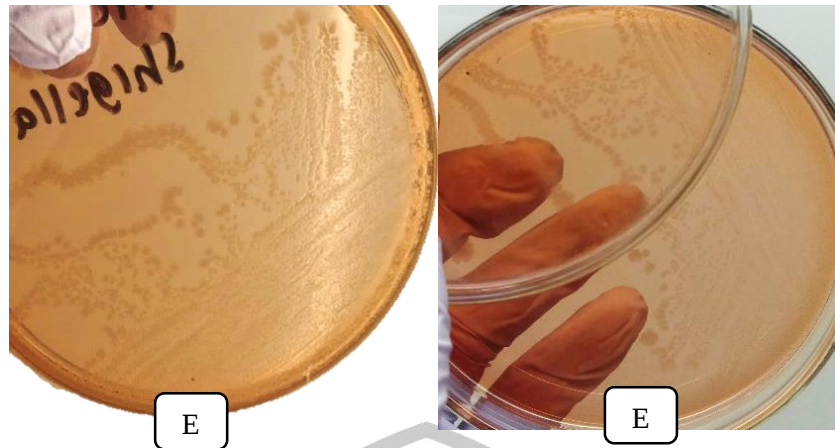
Gambar 6. Hasil Pengayaan Sampel pada Media EEB Setelah Diinkubasi pada Suhu 35-37 °C Selama 18-24 Jam



Gambar 7. Hasil Isolasi Sampel pada Media XLD dan MCA Setelah Diinkubasi pada Suhu 35-37 °C Selama 18-24 Jam



Gambar 8. Hasil Kontrol Negatif pada Media XLD dan MCA Setelah Diinkubasi pada Suhu 37 °C Selama 24 Jam



Gambar 9. Hasil Isolasi Kontrol Positif pada Media MCA Setelah Diinkubasi pada Suhu 37 °C Selama 24 Jam

Keterangan :

- A. Sampel 80
- B. Sampel 81
- C. Sampel 82
- D. Media XLD
- E. Media MCA



Gambar 10. Hasil Uji Biokimia Kontrol Positif dengan Kit API 20E Sebelum Diinkubasi pada Suhu 35-37 °C Selama 18-24 Jam



Gambar 11. Hasil Uji Biokimia Kontrol Positif dengan Kit API 20E Setelah Diinkubasi pada Suhu 35-37 °C Selama 18-24 Jam

Lampiran 5. Hasil Kit API 20E Kontrol Positif Setelah Dibaca Menggunakan API Web Online

3/12/2020

apiweb™ - Identification result

APIWEB™

API 20 E V5.0

+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	?	
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	
1			1			0			4			1			1			

1	2	4	1	2	4
NO ₂	N ₂	MOB	McC	OF-O	OF-F

REFERENCE: Kontrol Positif
DATE: 3/12/20
COMMENT:

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0		
Profile	+ - - + - - - - + - - - - + ?		
Note	CONFIRM BY SEROLOGICAL TESTS		
Significant taxa	% ID	T	Tests against
Shigella sonnei	99.1	0.83	
Next taxon	% ID	T	Tests against
Hafnia alvei 1	0.3	0.55	LDC 99%

BIODATA PENULIS



Penulis bernama lengkap Hafidza Qatrunada Adristi, lahir di Bekasi pada tanggal 28 Februari tahun 2000, merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Hunggul Wibowo dan Ibu Eulis Suhartini. Penulis berkebangsaan Indonesia dan beragama Islam. Kini penulis bertempat tinggal di Jalan Parikesit 1 RT/RW 21/12 Perumahan Bekasi Timur

Permai, Kelurahan Setiamekar, Kecamatan Tambun Selatan, Kabupaten Bekasi, Provinsi Jawa Barat. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SD Plus Al Fathonah Mardlotillah lulus pada tahun 2011, SMP Negeri 6 Tambun Selatan lulus pada tahun 2014, SMA Negeri 1 Tambun Selatan lulus pada tahun 2017. Setelah itu penulis melanjutkan sekolah kejenjang yang lebih tinggi di Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II Jurusan Analisis Farmasi dan Makanan.

Penulis pernah mengikuti berbagai seminar dan pelatihan semasa perkuliahan, yaitu Seminar Kesehatan Nasional oleh Program Studi Diploma III Analisis Farmasi Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II tahun 2017 dengan tema “*Express Your Beauty With Natural Cosmetics*” dengan mendapatkan 5 SKP, Seminar Kesehatan Nasional oleh Program Studi Diploma III Analisis Farmasi Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II tahun 2018 dengan tema “*Recognize, Prevent, and Treat the Present with Herbal Solution*” dengan mendapatkan 4 SKP, Seminar Kesehatan Nasional oleh Program Studi Diploma III Analisis Farmasi Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II tahun 2019 dengan tema “*Be Smart Millennials in Using Antibiotics to Fight the Infection*” dengan mendapatkan 3 SKP, dan beberapa pelatihan yaitu “Pengenalan Program Studi Mahasiswa (PPSM) bagi Mahasiswa Baru Periode Tahun 2017/2018 Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II”, acara Latihan Dasar Organisasi oleh Program Studi Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II tahun 2017 dengan Tema “*Spirit for Dedicating Responsibility*”.