

The Potential of Tempoyak Extract in Inhibiting Escherichia coli and Bacillus cereus Bacteria

[Potensi Ekstrak Tempoyak Dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli* Dan *Bacillus cereus*]

Novita Arisanti¹⁾, Chylen Setiyo Rini ^{*,1)}

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: chylensetiyorini@umsida.ac.id

Abstract. Food poisoning caused by pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* remains a public health issue. Tempoyak, a fermented durian product, has the potential to serve as a natural antibacterial agent because it contains various secondary metabolites. This study aims to analyze the antibacterial activity of tempoyak extract against *E. coli* and *B. cereus*. The study employed a laboratory experimental method. Tempoyak extract was obtained through maceration using 96% ethanol (3L) for 3×24 hours, and was then tested using the disk diffusion (Kirby–Bauer) method at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%, with 250 grams of chloramphenicol as the positive control and distilled water as the negative control. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, saponins, steroids, triterpenoids, phenolics, and tannins, with alkaloids exhibiting the strongest qualitative reaction intensity. The results of the two-way ANOVA test showed that extract concentration, bacterial species, and their interaction had a significant effect on the diameter of the inhibition zones ($P < 0.05$).

Keywords – Tempoyak, Antibacterial, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, Disk Diffusion.

Abstrak. Keracunan makanan yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* tetap menjadi masalah kesehatan masyarakat. Tempoyak, produk durian yang difermentasi, berpotensi berfungsi sebagai agen antibakteri alami karena mengandung berbagai metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak terhadap *E. coli* dan *B. cereus*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium. Ekstrak tempoyak diperoleh melalui proses maserasi menggunakan etanol 96% (3 L) selama 3 × 24 jam, kemudian diuji menggunakan metode difusi cakram (Kirby–Bauer) pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, dengan 250 gram kloramfenikol sebagai kontrol positif dan air suling sebagai kontrol negatif. Skrining fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin, dengan alkaloid menunjukkan intensitas reaksi kualitatif terkuat. Hasil uji ANOVA dua arah menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak, spesies bakteri, dan interaksinya memiliki pengaruh yang signifikan terhadap diameter zona penghambatan ($P < 0,05$).

Kata Kunci – Tempoyak, Antibakteri, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, Difusi Cakram.

I. PENDAHULUAN

Keracunan makanan masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang signifikan karena dapat menyebabkan gangguan kesehatan mulai dari gejala ringan hingga kondisi yang berpotensi mengancam jiwa. Kejadian ini umumnya terjadi akibat konsumsi makanan yang terkontaminasi bahan kimia maupun mikroorganisme patogen [1]. Sebagian besar kasus keracunan pangan dilaporkan terjadi akibat proses produksi dan pengolahan makanan yang kurang higienis [2]. Di Indonesia, kejadian keracunan pangan terus menunjukkan peningkatan. Data tahun 2021 hingga September 2024 memperlihatkan kenaikan jumlah kejadian dari 70 menjadi 198 kasus, sedangkan jumlah penderita meningkat dari 3.130 menjadi 7.003 kasus [3]. Kondisi serupa juga terjadi di Jawa Timur yang mengalami peningkatan kasus dari 343 kasus pada tahun 2021 menjadi 746 kasus pada tahun 2023 [4]. Tingginya angka kejadian tersebut menunjukkan bahwa keamanan pangan masih menjadi tantangan kesehatan masyarakat sehingga diperlukan pengembangan upaya pencegahan dan pengendalian, termasuk pemanfaatan bahan alami sebagai agen antibakteri.

Salah satu manifestasi paling umum dari keracunan pangan adalah terjadinya diare, yaitu kondisi meningkatnya frekuensi buang air besar sebanyak tiga kali atau lebih dalam sehari dengan konsistensi feses yang lebih cair dari normal menurut World Health Organization (WHO). Diare masih menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas, terutama pada kelompok usia bayi dan balita [5],[6]. Berbagai bakteri patogen penyebab diare antara lain *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter spp.*, dan *Escherichia coli* [4]. Di antara bakteri tersebut *E. coli* merupakan salah satu penyebab utama diare akibat pangan yang terkontaminasi. *E. coli* juga merupakan flora normal saluran pencernaan manusia, namun beberapa strain patogen mampu menyebabkan diare, diare berdarah, infeksi saluran kemih, hingga bakteremia [7],[8].

Selain bakteri Gram-negatif *E. coli*, keracunan pangan juga dapat disebabkan oleh bakteri Gram-positif, salah satunya *Bacillus cereus*. Bakteri ini banyak ditemukan pada tanah, bahan pangan, serta lingkungan sekitar dan mampu membentuk endospora yang tahan terhadap kondisi ekstrem [9]. Kemampuan tersebut menyebabkan *B. cereus* tetap dapat bertahan pada makanan yang telah dimasak namun disimpan secara tidak tepat. Bakteri ini menghasilkan enterotoksin dan toksin emetik yang dapat menimbulkan mual, muntah, nyeri abdomen, serta diare [10],[9]. Pada penelitian [11] di Indonesia, proporsi diare yang berhubungan dengan *B. Cereus* sebanyak 46%,75%, sehingga bakteri ini perlu mendapat perhatian sebagai agen penyebab penyakit bawaan makanan.

Upaya pengobatan infeksi bakteri umumnya dilakukan menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan berlangsung dalam jangka panjang telah meningkatkan kejadian resistensi bakteri [12]. Resistensi menyebabkan efektivitas terapi menurun sehingga infeksi menjadi lebih sulit ditangani [13],[14]. Beberapa penelitian bahwa *E. coli* menunjukkan tingkat resistensi yang tinggi terhadap berbagai antibiotik, termasuk amoksisilin dan siprofloksasin, tingginya resistensi tersebut berkaitan dengan struktur dinding sel bakteri Gram- negatif yang lebih kompleks sehingga mampu menghambat masuknya berbagai senyawa antibakteri [15],[16]. Sementara itu, *B. cereus* diketahui mampu menghasilkan enzim β -laktamase yang menyebabkan resistensi terhadap kelompok antibiotik β -laktam, termasuk sefalosporin generasi ketiga [17]. Kondisi tersebut mendorong perlunya pencarian sumber antibakteri alternatif yang lebih aman, mudah diperoleh, dan berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Salah satu bahan pangan tradisional yang berpotensi sebagai antibakteri alami adalah tempoyak. Tempoyak merupakan produk fermentasi daging buah durian yang banyak dikonsumsi masyarakat Sumatra, khususnya Sumatra Selatan [18]. Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat (BAL) berkembang dan menghasilkan berbagai metabolit seperti asam organik, hidrogen peroksida, serta bakteriosin yang diketahui memiliki aktivitas antimikroba [19]. Selain itu, durian sebagai bahan baku tempoyak juga mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti polifenol, flavonoid, flavonol, antosianin, dan asam kafeat yang berpotensi menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen [28]. Kombinasi antara metabolit hasil fermentasi dan senyawa bioaktif tersebut menjadikan tempoyak sebagai kandidat sumber antibakteri alami yang menjanjikan [20],[21].

Penelitian telah melaporkan aktivitas antibakteri tempoyak terhadap bakteri patogen. Isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari tempoyak mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan diameter zona hambat berkisar antara 10,80–15,21 mm [22]. Hasil serupa juga dilaporkan oleh penelitian lain yang menunjukkan bahwa isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) dari tempoyak menghasilkan zona hambat terhadap *E. coli* sebesar 10,3–12,9 mm [19]. Selain itu, beberapa isolat BAL tempoyak dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan diameter zona hambat antara 8–12 mm [23].

Berdasarkan latar belakang di atas menunjukkan bahwa tempoyak memiliki potensi sebagai antibakteri alami. Namun penelitian yang mengevaluasi aktivitas ekstrak tempoyak secara langsung masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi ekstrak tempoyak sebagai antibakteri alami terhadap kedua bakteri tersebut.

II. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak tempoyak terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *B. cereus*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*), yaitu dengan mengamati terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang telah diberi berbagai konsentrasi ekstrak tempoyak. Bahan dalam penelitian ini adalah tempoyak yang berasal dari Sekayu, Sumatera Selatan. Sampel yang digunakan dipilih berdasarkan karakteristik tertentu, yaitu memiliki rasa asam, berwarna kuning pucat, dan tidak mengalami pembusukan. Sementara itu, kultur bakteri *E.coli* ATCC 25923 dan *B.cereus* ATCC 11778 yang digunakan sebagai bakteri uji diperoleh dari *platform e-commerce* Vie Lab.

Penelitian dilaksanakan pada bulan April–Mei 2026. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, sedangkan uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA. Seluruh rangkaian penelitian telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga dengan nomor 0545/HRECC.FODM/VI/2026.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dikelompokkan berdasarkan tahapan penelitian. Peralatan untuk ekstraksi meliputi timbangan analitik, blender, alat gelas laboratorium, kertas saring, dan *rotary evaporator*. Peralatan untuk sterilisasi dan kultur bakteri meliputi autoklaf, inkubator, ose steril, mikropipet, cawan petri, dan perlengkapan inokulasi. Peralatan pengukuran meliputi spektrofotometer UV-Vis dan jangka sorong digital untuk mengukur diameter zona hambat. Bahan ekstrak tempoyak, biakan murni bakteri *E. Coli* dan *B. Cereus*, media *Nutrient Agar* (NA), *Muller Hitton Agar* (MHA), *Eosin Methylen Blue* (EMB), *Blod Agar Plate* (BAP), *Mc Farland 0,5*, *Nacl 0,9 %*, Tisu, *blank disk*, kertas saring, aquades, kapas steril, aluminium foil.

Tahap Penelitian persiapan bahan baku, Tempoyak 1kg yang berasal dari buah durian matang sempurna difermentasi dan disimpan dalam toples tertutup hingga digunakan sebagai sampel penelitian. Selanjutnya tempoyak dikeringkan menggunakan oven pada suhu 70°C selama 25 jam hingga diperoleh sampel kering. Ekstraksi tempoyak Sebanyak 300 g sampel kering dimaserasi menggunakan etanol 96% (3 L) selama 3 × 24 jam, kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak selanjutnya diencerkan dengan akuades steril menjadi konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Pembuatan media Sebelum digunakan dalam pengujian, bakteri *E.coli* dan *B.cereus* diremajakan terlebih dahulu pada media *Nutrient Agar* (NA). Suspensi bakteri dibuat dengan mengambil koloni yang tumbuh pada media selektif, yaitu Eosin *Methylene Blue* (EMB) untuk *E.coli* dan *Blod Agar plate* (BAP) untuk *B.cereus*, menggunakan ose steril. Koloni tersebut kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 7 mL larutan NaCl 0,9% steril. Kepadatan suspensi bakteri selanjutnya disesuaikan dengan standar McFarland 0,5 dan dikonfirmasi menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 600 nm. Nilai absorbansi pada rentang 0,08–0,10 menunjukkan kesetaraan dengan standar *Mc Farland* 0,5, yaitu sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL [24].

Pengujian aktivitas Antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*Kirby–Bauer*). Suspensi bakteri yang telah memenuhi standar diinokulasikan secara merata pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) menggunakan kapas swab steril. Selanjutnya, cakram kertas steril yang telah diberi ekstrak tempoyak sesuai masing-masing konsentrasi, serta cakram yang mengandung kontrol positif menggunakan kloramfenikol dosis 250 mg dan kontrol negatif aquades steril, ditempatkan pada permukaan media. Cakram ditekan secara perlahan agar melekat sempurna pada media. Cawan petri kemudian ditutup, dibungkus menggunakan *cling wrap* untuk mencegah kontaminasi, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Setelah proses inkubasi selesai, aktivitas antibakteri diamati berdasarkan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong, kemudian hasil pengukuran diinterpretasikan berdasarkan kategori daya hambat menurut standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), yaitu resisten apabila diameter zona hambat 15–19 mm dan sensitif apabila diameter zona hambat ≥ 20 mm. Pada penelitian ini, zona hambat dengan diameter ≤ 14 mm dikategorikan sebagai daya hambat lemah.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pembuatan simplisia dan Ekstrak Tempoyak

Proses ekstraksi serbuk tempoyak dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena prosedurnya relatif sederhana dan tidak melibatkan proses pemanasan, sehingga senyawa aktif yang bersifat termolabil dapat tetap terjaga dan terhindar dari kerusakan [25]. Hasilnya dapat disajikan pada **Tabel 1**

Tabel 1. Hasil Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Tempoyak

Parameter	Nilai
Berat simplisia awal	300 gram
Berat ekstrak kental	129 gram
Perhitungan	$(129 \text{ gram} / 300 \text{ gram}) \times 100\%$
Hasil rendeman	43%

Berdasarkan hasil **Tabel 1**, Sebanyak 300 gram sampel kering diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan 3 liter etanol 96% selama 3 × 24 jam. Setelah proses ekstraksi selesai, diperoleh rendemen sebesar 43%. Nilai rendemen menunjukkan persentase ekstrak yang dihasilkan dibandingkan dengan berat awal simplisia dan menggambarkan banyaknya senyawa yang berhasil tersari selama proses ekstraksi [26]. Tingginya rendemen dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti jenis pelarut, metode ekstraksi, lama ekstraksi, serta kandungan senyawa aktif dalam bahan [27].

Maserat kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70°C selama 5 jam hingga diperoleh 129 gram ekstrak kental. Ekstrak selanjutnya diencerkan menggunakan aquades steril menjadi konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% [28].

B. Skrining uji fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif yang merupakan uji awal untuk mengidentifikasi senyawa aktif dalam suatu sampel dengan melihat reaksi warna yang terbentuk. Hasil skrining fitokimia pada tempoyak dapat dilihat

Tabel 2. Hasil Fitokimia Tempoyak

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil (Terbentuknya)	Kesimpulan Tempoyak (+)/(-)
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+++
	Wagner	Endapan coklat	+++
	Dragendorf	Endapan jingga	+++
Flavonoid	Mg + HCL pekat + etanol	Warna merah	-
Saponin	-	Adanya busa stabil	+
Steroid	Liebermann-Burchard	Ungu ke biru/hijau	++
Triterpenoid	Kloroform + H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	++
Fenolik	NaCl 10% + Gelatin 1% FeCl ₃ 1%	Endapan putih	++
Tanin		Coklat kehijauan	++

Keterangan :

(+) = Terindikasi dengan intensitas lemah

(++) = Terindikasi dengan intensitas sedang

(+++)= Terindikasi dengan intensitas kuat

(-) = Tidak terindikasi senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel 2 ekstrak tempoyak terdeteksi mengandung beberapa golongan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin, sedangkan flavonoid tidak terdeteksi. Keberadaan berbagai senyawa tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tempoyak berpotensi memiliki aktivitas antibakteri karena metabolit sekunder diketahui mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme melalui berbagai mekanisme, seperti merusak membran sel, mengganggu sintesis protein, dan menghambat aktivitas enzim bakteri [29].

Pengujian fitokimia menunjukkan bahwa alkaloid memberikan intensitas reaksi paling kuat (+++). Intensitas reaksi yang tinggi mengindikasikan bahwa alkaloid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder. Kandungan alkaloid juga berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak karena senyawa ini memiliki berbagai mekanisme penghambat terhadap bakteri, seperti mengganggu sintesis dinding sel, menghambat sintesis DNA, merusak integritas membran sel, serta menghambat kerja *efflux pump* yang berperan dalam mekanisme resisten bakteri. Salah satu alkaloid yang diketahui memiliki aktivitas tersebut adalah (berberine), yang termasuk golongan alkaloid (isoquinoline) dan telah di laporkan efektif menghambat pertumbuhan berbagai bakteri Gram positif maupun Gram negatif, bakteri *E.coli*, *B. Cereus* [30].

Tingginya kandungan alkaloid kemungkinan dipengaruhi oleh kemampuan etanol 96% dalam melarutkan senyawa alkaloid serta proses maserasi selama 3×24 jam yang memungkinkan difusi senyawa berlangsung lebih optimal. Dominannya kandungan alkaloid diduga turut berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak karena alkaloid diketahui mampu mengganggu sintesis dinding sel, serta mengganggu metabolisme bakteri [31],[32]. Hasil penelitian ini sejalan dengan [33] menunjukkan keberadaan alkaloid sebagai salah satu metabolit utama pada ekstrak etanol tumbuhan yang memiliki aktivitas antibakteri. Namun, pada penelitian ini intensitas reaksi alkaloid tergolong kuat (+++) sedangkan penelitian [34] hanya menunjukkan keberadaan alkaloid secara positif tanpa menunjukkan intensitas reaksi yang dominan. Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh jenis bahan baku, proses fermentasi, metode ekstraksi, konsentrasi pelarut, maupun kondisi pertumbuhan bahan yang digunakan.

Intensitas reaksi saponin yang tergolong lemah (+) menunjukkan bahwa kandungan saponin dalam ekstrak tempoyak relatif lebih sedikit dibandingkan alkaloid maupun senyawa fenolik. Meskipun demikian, keberadaan saponin tetap diduga berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri melalui efek sinergis dengan metabolit sekunder lainnya [35]. Intensitas sedang (++) pada steroid dan triterpenoid menunjukkan bahwa kedua metabolit tersebut terdapat dalam jumlah yang cukup terdeteksi, namun tidak mendominasi komposisi ekstrak. Hal ini dapat dipengaruhi oleh karakteristik metabolit dalam bahan maupun selektivitas pelarut etanol 96% selama proses ekstraksi [36].

Intensitas sedang (++) pada fenolik dan tanin menunjukkan bahwa kedua senyawa berhasil terekstraksi selama proses maserasi. Keberadaan senyawa ini diduga turut meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak melalui mekanisme yang berbeda dengan alkaloid dan saponin sehingga memungkinkan terjadinya efek sinergis.[37].

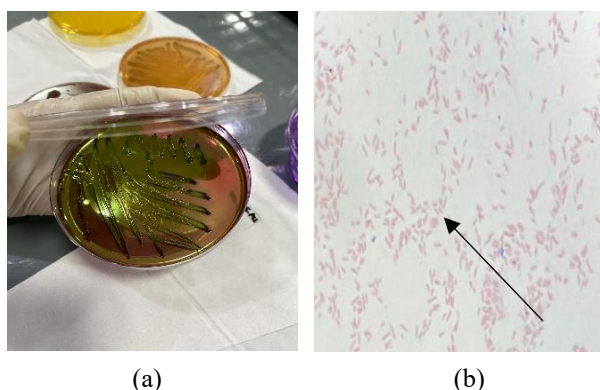
Pada penelitian ini, flavonoid tidak terdeteksi secara kualitatif menggunakan uji magnesium-HCl (*Shinoda test*). Hasil tersebut diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain perubahan komposisi metabolit selama proses fermentasi tempoyak, kemungkinan terjadinya oksidasi senyawa flavonoid, serta keterbatasan sensitivitas metode skrining fitokimia yang digunakan. Selain itu, penggunaan etanol 96% sebagai pelarut juga dapat memengaruhi efisiensi ekstraksi flavonoid. Flavonoid umumnya lebih mudah diekstraksi menggunakan etanol dengan kadar air yang lebih tinggi, seperti etanol 70%, karena sebagian besar flavonoid bersifat cukup polar. Oleh karena itu, kandungan flavonoid dalam ekstrak tempoyak kemungkinan berada di bawah batas deteksi uji kualitatif meskipun masih terdapat dalam jumlah kecil [38].

Fermentasi tempoyak oleh bakteri asam laktat diketahui dapat mengubah komposisi metabolit sekunder melalui aktivitas enzimatik sehingga beberapa senyawa dapat meningkat, menurun, ataupun mengalami transformasi menjadi bentuk metabolit lain yang lebih sederhana. Keberadaan alkaloid, fenolik, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid secara bersamaan menjadi dasar munculnya aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak [39].

C. Identifikasi bakteri *Escherichia coli*

Identifikasi bakteri *E.coli* dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni pada media selektif *Eosin Methylene Blue* (EMB) serta pewarnaan Gram. Hasil kultur pada media EMB menunjukkan terbentuknya koloni berwarna hijau metalik (*metallic green sheen*) (Gambar 1a). Karakteristik tersebut mengindikasikan kemampuan bakteri dalam memfermentasi laktosa secara kuat sehingga menghasilkan asam dalam jumlah tinggi. Asam yang terbentuk menyebabkan terjadinya reaksi dengan zat warna *eosin* dan *methylene blue* yang terkandung dalam media, sehingga menghasilkan kilauan hijau khas pada permukaan koloni [40].

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat memiliki bentuk batang (basil) dan berwarna merah muda di bawah mikroskop (Gambar 2b), yang menandakan bahwa bakteri tersebut termasuk kelompok Gram negatif. Warna merah muda muncul karena lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri Gram negatif relatif tipis sehingga tidak mampu mempertahankan pewarna kristal violet selama proses dekolorisasi dan selanjutnya menyerap pewarna tandingan safranin. Karakteristik morfologi koloni dan hasil pewarnaan Gram yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan karakteristik *E.coli* yang dilaporkan pada penelitian sebelumnya, yaitu membentuk koloni hijau metalik pada media EMB dan memiliki morfologi basil Gram negatif [41].

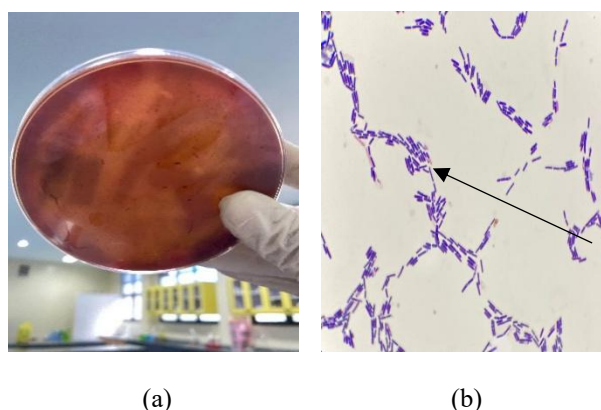


Gambar 1. Hasil Karakteristik Bakteri Uji (a) Hasil pewarnaan bakteri *E.coli* pada media selektif EMB (b) Hasil pewarnaan gram bakteri *E.coli* dan pengamatan mikroskop pada perbesaran 1000x

D. Identifikasi *Bacillus cereus*

Identifikasi *B.cereus* dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni pada media BAP dan pewarnaan Gram. Hasil kultur pada media BAP menunjukkan adanya zona bening di sekitar pertumbuhan koloni (**Gambar 2a**), yang mengindikasikan terjadinya hemolisis terhadap sel darah merah. Karakteristik tersebut menunjukkan adanya aktivitas β -hemolisis, yaitu kemampuan bakteri melisiskan sel darah merah secara sempurna sehingga terbentuk area transparan di sekitar koloni. Sifat β -hemolisis merupakan salah satu karakteristik yang umum ditemukan pada *B.cereus* dan sering digunakan sebagai penunjang dalam proses identifikasi bakteri tersebut [42].

Hasil pengamatan mikroskopis setelah pewarnaan Gram menunjukkan bahwa sel bakteri berwarna ungu dengan bentuk batang (basil) (**Gambar 2b**). Warna ungu menandakan bahwa isolat termasuk bakteri Gram positif karena memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal pada dinding selnya, sehingga mampu mempertahankan pewarna kristal violet selama proses dekolorisasi [43]. Berdasarkan karakteristik hemolisis pada media BAP dan hasil pewarnaan Gram, isolat yang digunakan dalam penelitian ini memiliki ciri-ciri yang sesuai dengan *B. cereus*.



Gambar 2 Hasil Karakteristik Bakteri Uji a) Hasil Kultur bakteri *B.cereus* pada media BAP b) Hasil pewarnaan gram bakteri *B.cereus* dan pengamatan mikroskop perbesaran 1000x

E. Uji antibakteri

Pengujian daya hambat dilakukan terhadap bakteri *E.coli* dan *B.cereus* menggunakan metode difusi cakram. Aktivitas antibakteri diamati berdasarkan terbentuknya zona bening di sekitar cakram sebagai tanda adanya penghambatan pertumbuhan bakteri. Diameter zona hambat yang terbentuk setelah masa inkubasi selama 1×24 jam.

Tabel 3 Hasil Pengukuran Zona Hambat Dengan Ekstrak Tempoyak Bakteri *E.coli*

Zat Uji	Konsentrasi (%)	Perhitungan Zona Hambat (mm)					Rata-rata ± SD	Kategori
		Pengulangan Ke-						
		I	II	III	IV	V		
Tempoyak	25	7,42	7,26	7,38	6,92	7,32	7,26 ± 0,19 ^b	R
	50	8,04	8,26	7,88	7,72	8,42	8,06 ± 0,28 ^c	R
	75	9,16	8,88	9,24	9,42	8,76	9,09 ± 0,26 ^d	R
	100	10,20	10,18	9,86	10,32	9,86	10,08 ± 0,21 ^e	R
Kontrol Positif (+)	Kloramfenikol 250 mg	22,70	22,88	23,32	22,76	23,44	23,02 ± 0,33 ^a	S
Kontrol Negatif (-)	Aquades	0	0	0	0	0	0,00 ± 0,00 ^f	R

Keterangan: Notasi huruf di belakang angka menunjukkan hasil uji Duncan. Perlakuan yang memiliki huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata, sedangkan perlakuan dengan huruf yang berbeda berarti berbeda nyata. R : Resisten S : Sensitive

Tabel 4 Hasil Pengukuran Zona Hambat Dengan Ekstrak Tempoyak Bakteri *B.cereus*

Zat Uji	Konsentrasi (%)	Perhitungan Zona Hambat (mm)					Rata-rata ± SD	Kategori
		Pengulangan Ke-						
		I	II	III	IV	V		
Tempoyak	25	9,22	9,16	8,98	8,84	9,14	9,06 ± 0,15 ^b	R
	50	10,04	10,26	9,82	9,86	10,16	10,02 ± 0,18 ^c	R
	75	10,90	11,42	11,26	10,88	11,36	11,16 ± 0,25 ^d	R
	100	13,20	12,96	13,34	13,08	12,98	13,11 ± 0,15 ^e	R
Kontrol Positif (+)	Kloramfenikol 250 mg	28,74	27,66	28,70	29,02	27,62	28,34 ± 0,65 ^f	S

Kontrol Negatif (-)	Aquades	0	0	0	0	0	0,00 ± 0,00 ^a	R
------------------------	---------	---	---	---	---	---	--------------------------	---

Keterangan: Notasi huruf di belakang angka menunjukkan hasil uji Duncan. Perlakuan yang memiliki huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata, sedangkan perlakuan dengan huruf yang berbeda berarti berbeda nyata. R : Resisten S : Sensitive

Berdasarkan Tabel 3 hasil uji daya hambat Peningkatan diameter zona hambat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak menunjukkan adanya hubungan *dose-dependent*, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak senyawa bioaktif yang berdifusi ke dalam media agar. Difusi senyawa aktif yang lebih besar meningkatkan peluang kontak dengan sel bakteri sehingga proses kerusakan membran sel, gangguan permeabilitas membran, dan hambatan metabolisme bakteri berlangsung lebih efektif. Oleh karena itu, diameter zona hambat meningkat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak [44]. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa antibakteri pada ekstrak tempoyak bekerja lebih efektif pada konsentrasi yang lebih tinggi. Pada konsentrasi 25%, rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 7,26 mm dan termasuk dalam kategori resisten. Konsentrasi 50% menunjukkan peningkatan daya hambat dengan rata-rata sebesar 8,06 mm dan masih berada pada kategori resisten. Selanjutnya, pada konsentrasi 75% diperoleh rata-rata zona hambat sebesar 9,09 mm yang juga termasuk kategori resisten. Peningkatan daya hambat paling tinggi pada perlakuan ekstrak terjadi pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,08 mm dan masuk dalam kategori resisten. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi 100% memiliki kemampuan antibakteri paling efektif dibandingkan konsentrasi lainnya.

Penentuan kategori resisten, intermediate, dan sensitive pada uji daya hambat antibakteri didasarkan pada besar diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram [45]. Kategori resisten menunjukkan bahwa bakteri masih mampu tumbuh meskipun telah diberikan senyawa antibakteri. Pada penelitian ini, seluruh konsentrasi ekstrak tempoyak menghasilkan zona hambat ≤ 14 mm masih tergolong resisten. Peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan bertambahnya diameter zona hambat yang menandakan adanya aktivitas antibakteri hal ini didukung oleh penelitian [46]. Kloramfenikol sebagai kontrol positif menghasilkan zona hambat ≥ 20 mm termasuk kategori sensitive menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 23,02 mm. Besarnya zona hambat pada kontrol positif menunjukkan bahwa antibiotik (kloramfenikol) memiliki aktivitas antibakteri yang jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak tempoyak. Hal ini disebabkan karena (kloramfenikol) merupakan antibiotik spektrum luas yang bekerja menghambat sintesis protein bakteri sehingga pertumbuhan bakteri dapat terhambat secara optimal [47]. Antibiotik ini terbukti efektif dan sangat sensitif dalam menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri, baik kelompok Gram-positif maupun Gram-negatif Hal ini didukung oleh penelitian [48].

Sementara itu, kontrol negatif menggunakan aquades tidak menunjukkan adanya zona hambat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aquades tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Aquades merupakan air hasil destilasi yang bersifat polar karena molekulnya memiliki kutub positif dan negatif, sehingga mampu melarutkan berbagai senyawa polar tanpa memengaruhi struktur maupun aktivitas biologis senyawa tersebut. Selain itu, aquades bersifat inert dan tidak bersifat toksik terhadap mikroorganisme. Oleh sebab itu, aquades digunakan sebagai kontrol negatif untuk memastikan bahwa zona hambat yang terbentuk pada perlakuan benar-benar disebabkan oleh aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak, bukan oleh pelarut yang digunakan. Tidak adanya zona hambat pada kontrol negatif menunjukkan bahwa aquades tidak berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri, sehingga efek antibakteri yang diamati dapat dikaitkan secara langsung dengan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak tempoyak dengan demikian, zona hambat yang terbentuk pada setiap perlakuan benar-benar berasal dari aktivitas senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak tempoyak [49].

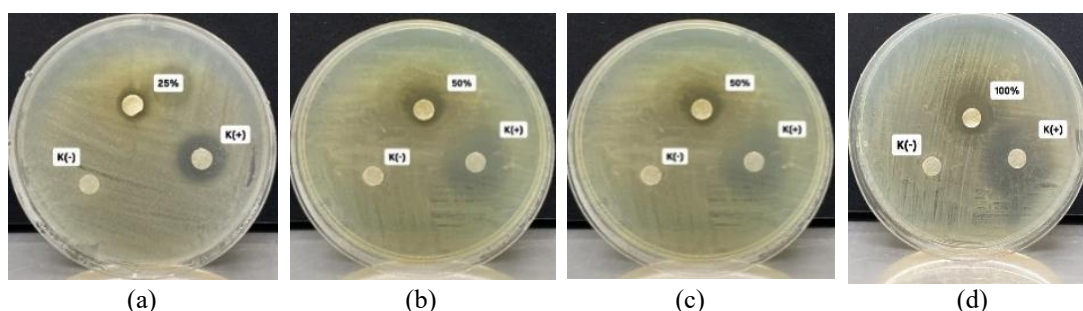
Berdasarkan hasil uji *Two way* ANOVA menunjukkan bahwa jenis bakteri berpengaruh signifikan terhadap diameter zona hambat ($p < 0,05$). Faktor jenis bakteri memiliki nilai signifikansi 0,000, yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan sensitivitas antara bakteri uji terhadap ekstrak tempoyak. Aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak terhadap bakteri *E.coli* menunjukkan cenderung lebih rendah dibandingkan *B. cereus*. Perbedaan tersebut berkaitan dengan karakteristik struktur dinding sel masing-masing bakteri. *E. coli* merupakan bakteri Gram-negatif yang memiliki membran luar mengandung lipopolisakarida (*lipopolysaccharide/LPS*) sehingga menjadi penghalang bagi masuknya senyawa antibakteri. Sebaliknya, *B. cereus* sebagai bakteri Gram-positif hanya memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih sederhana sehingga senyawa antibakteri lebih mudah berdifusi ke dalam sel. Kondisi tersebut menyebabkan ekstrak tempoyak lebih efektif menghambat pertumbuhan *B. cereus* dibandingkan *E. coli*. [50]. Hal ini didukung oleh penelitian [51] bahwa tempoyak mengandung senyawa-senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin.

Alkaloid diketahui bekerja dengan mengganggu sintesis peptidoglikan serta menghambat pembentukan asam nukleat sehingga pertumbuhan bakteri terganggu. Tanin mampu mengendapkan protein penyusun dinding sel dan menonaktifkan enzim bakteri sehingga permeabilitas sel menurun. Saponin meningkatkan permeabilitas membran sel dengan berinteraksi terhadap lipid membran sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler. Senyawa fenolik bekerja melalui denaturasi protein dan kerusakan membran sel akibat perubahan permeabilitas, sedangkan

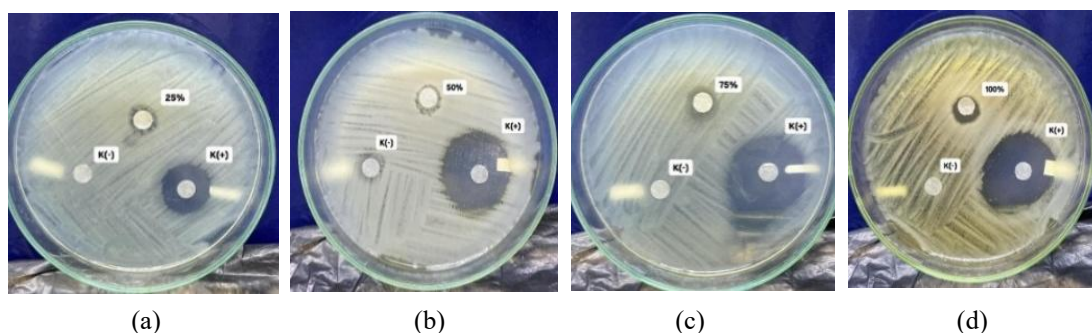
steroid dan triterpenoid berperan dalam merusak integritas membran sehingga menyebabkan kematian sel bakteri. Pada penelitian [52] menunjukkan bahwa tempoyak mengandung beberapa isolat seperti BAL (Bakteri asam laktat) dengan karakteristik berbeda yang berpotensi menghambat pertumbuhan *E.coli*, sehingga bisa menghambat bakteri *E.coli*.

Tabel 4 Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tempoyak berbanding lurus dengan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi 25%, rata-rata zona hambat yang terbentuk sebesar 9,06 mm dan termasuk kategori resisten. Konsentrasi 50% menunjukkan peningkatan daya hambat dengan rata-rata 10,02 mm yang juga masih berada pada kategori resisten. Selanjutnya pada konsentrasi 75%, diameter zona hambat meningkat menjadi 11,16 mm dan masuk dalam kategori resisten. Aktivitas antibakteri tertinggi diperoleh pada konsentrasi 100% dengan rata-rata zona hambat sebesar 13,11 mm yang juga termasuk kategori resisten. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak tempoyak mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus* secara optimal pada konsentrasi tinggi. Diameter zona hambat terhadap *B. cereus* pada seluruh konsentrasi lebih besar dibandingkan *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tempoyak memiliki efektivitas yang lebih tinggi terhadap bakteri Gram-positif. Perbedaan sensitivitas tersebut dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri Gram-positif yang lebih sederhana sehingga penetrasi senyawa antibakteri berlangsung lebih mudah dibandingkan bakteri Gram-negatif.

Pada penelitian ini, kontrol positif berupa kloramfenikol 250 mg menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 28,34 mm sehingga termasuk kategori sensitif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kloramfenikol memiliki daya hambat yang lebih kuat dibandingkan ekstrak tempoyak. Hal ini disebabkan karena kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri melalui penghambatan aktivitas enzim peptidil transferase pada subunit ribosom 50S [53]. Sementara itu, kontrol negatif menggunakan aquades steril tidak membentuk zona hambat. Pada kontrol negatif yang menggunakan aquades, tidak terbentuk zona hambat sehingga termasuk dalam kategori resisten. Zona hambat kloramfenikol yang jauh lebih besar dibandingkan ekstrak tempoyak menunjukkan bahwa antibiotik murni memiliki efektivitas antibakteri yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena kloramfenikol mengandung senyawa aktif tunggal dengan konsentrasi yang telah terstandarisasi, sedangkan ekstrak tempoyak masih berupa campuran berbagai senyawa bioaktif yang kadarnya relatif rendah sehingga aktivitas antibakterinya belum sekuat antibiotik sintesis.



Gambar 3 Aktivitas antibakteri tempoyak dengan bakteri *E.coli* a) Konsentrasi 25%, b) Konsentrasi 50%, c) Konsentrasi 75%, d) Konsentrasi 100% (Dokumentasi Pribadi)



Gambar 4 Aktivitas antibakteri tempoyak dengan bakteri *B.cereus*. a) Konsentrasi 25%, b) Konsentrasi 50%, c) Konsentrasi 75%, d) Konsentrasi 100% (Dokumentasi Pribadi)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa data diameter zona hambat terhadap *E. coli* dan *B. cereus* berdistribusi normal berdasarkan uji *Shapiro–Wilk* ($p > 0,05$), serta memiliki varians yang homogen berdasarkan uji

Levene ($p=0,576$). Dengan terpenuhinya kedua asumsi tersebut, data selanjutnya dianalisis menggunakan uji *Two Way ANOVA*.

Hasil uji *Two Way ANOVA* menunjukkan bahwa jenis bakteri, konsentrasi ekstrak tempoyak, dan interaksi antara keduanya berpengaruh signifikan terhadap diameter zona hambat ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri ekstrak tempoyak dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak serta karakteristik bakteri yang diuji.

Uji lanjut Duncan menunjukkan adanya peningkatan diameter zona hambat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Pada *E. coli*, rata-rata diameter zona hambat berturut-turut sebesar 7,26 mm (25%), 8,06 mm (50%), 9,09 mm (75%), dan 10,08 mm (100%), sedangkan kontrol positif menghasilkan zona hambat sebesar 23,02 mm. Pada *B. cereus*, diameter zona hambat meningkat dari 9,06 mm (25%), 10,02 mm (50%), 11,16 mm (75%), hingga 13,11 mm (100%), dengan kontrol positif sebesar 28,34 mm. Konsentrasi 100% memberikan aktivitas antibakteri tertinggi pada kedua bakteri. Hal ini menandakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan jumlah senyawa aktif antibakteri yang berdifusi ke media semakin banyak, sehingga kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri menjadi lebih kuat [44].

Aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak juga diduga dipengaruhi oleh proses fermentasi yang berlangsung selama pembuatan tempoyak. Fermentasi menghasilkan berbagai metabolit, seperti asam laktat, asam asetat, serta senyawa antimikroba yang diproduksi oleh bakteri asam laktat (*Lactic Acid Bacteria*). Penurunan pH akibat terbentuknya asam organik dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, sedangkan bakteriosin yang dihasilkan bakteri asam laktat mampu merusak membran sel bakteri sehingga memperkuat aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak [20].

Bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa ekstrak tempoyak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif. Aktivitas tersebut diduga berasal dari kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada tempoyak, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, serta asam organik hasil fermentasi. Senyawa flavonoid diketahui dapat mengganggu integritas membran sel bakteri dan menghambat kerja enzim seluler, sedangkan tanin berperan dalam merusak protein penyusun dinding sel sehingga menyebabkan terganggunya fungsi sel bakteri [54]. Hal ini didukung oleh penelitian [51] bahwa tempoyak mengandung senyawa-senyawa aktif seperti alkaloid dengan dengan hasil intensitas kuat, Saponin intensitas lemah, dan untuk yang Steroid, Triterpenoid, Fenolik, Tanin dengan intensitas yang sedang.

V. SIMPULAN

Kesimpulan di penelitian ini adalah ekstrak tempoyak berpotensi sebagai antibakteri alami terhadap *E. coli* dan *B. cereus*, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada seluruh konsentrasi ekstrak. Konsentrasi 100% merupakan konsentrasi paling efektif dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,08 mm terhadap *E. coli* dan 13,11 mm terhadap *B. cereus*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar daya hambat yang dihasilkan, *B. cereus* lebih sensitif dibandingkan *E. coli*. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan jenis bakteri uji yang lebih beragam, baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif, untuk mengetahui spektrum aktivitas antibakteri ekstrak tempoyak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada petugas laboratorium dan rekan kerja serta sivitas akademik Prodi Teknologi Laboratorium Medis FIKES UMSIDA, Laboratorium UNESA dan semua pihak yang telah memberikan dukungan dalam pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

- [1] N. F. Fitriana, "Gambaran Pengetahuan Pertolongan Pertama Keracunan Makanan," *J. Kesehat. Tambusai*, vol. 2, no. 3, pp. 173–178, 2021, doi: <https://doi.org/10.31004/jkt.v2i3.2260>.
- [2] D. Utami, "Faktor Risiko Higiene Dan Sanitasi Penjamah Makanan Di Warung Makan Pasar Tradisional Adiwarna Kabupaten Tegal," *J. Ilm. Indones.*, vol. 7, no. 8.5.2017, pp. 2003–2005, 2022.
- [3] I. Hanifatu, "Gambaran Faktor Risiko Dan Karakteristik Kejadian Luar Biasa (Klb) Keracunan Pangan Jawa Timur Tahun 2024," *J. Kesehat. Tambusai*, vol. 6, no. 1, pp. 4143–4155, 2025, doi: <https://doi.org/10.31004/jkt.v6i1.42674>.
- [4] Arinta, "Keracunan Permen Lunak pada Siswa Sekolah Dasar di Kota Blitar, Provinsi Jawa Timur," *J. Kesehat.*, vol. 16, no. 2, pp. 86–92, 2023, doi: [10.32763/cnyseg44](https://doi.org/10.32763/cnyseg44).
- [5] S. A. Husna and N. V. Soviadi, "Distribusi Penyakit Diare Dan Determinan Dengan Pemetaan Wilayah Provinsi Jawa Barat Tahun 2020," *J. Kesehat. Komunitas Indones.*, vol. 20, no. 2, pp. 136–146, 2024, doi: <https://doi.org/10.30605/jkt.v20i2.136-146>.

- 10.37058/jkki.v20i2.12676.
- [6] A. Leonard and S. Jap, "Diare Akut pada Anak yang Disebabkan oleh Infeksi *Acute Diarrhea Caused by Infection in Children*," J. Kedokt. Meditek, vol. 27, no. 3, pp. 282–288, 2022, doi: 10.36452/jkdoktmeditek.v27i3.2068.
 - [7] H. M. Kurniawan, N. Zuhdi, and A. N. Nasution, "Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro," Pros. Semin. Nas. Teknol. Komput. dan Sains, vol. 1, no. 1, pp. 712–718, 2023.
 - [8] D. R. Safitri, "Potensi *Escherichia Coli* sebagai Resistansi Antibiotik," Algoritma. J. Mat. Ilmu Pengetah. Alam, Kebumihan dan Angkasa, vol. 2, no. 5, pp. 8–20, 2024, doi: 10.62383/algoritma.v2i5.109.
 - [9] R. D.-H. Yusma Yennie, "Kontaminasi *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* pada *Contamination of Staphylococcus aureus and Bacillus cereus in Sushi at Retail Level in Jabodetabek Area*," J. Pengolah. Has. Perikan. Indones., vol. 25, no. 2, pp. 331–344, 2022, doi: <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.42066>.
 - [10] Y. Diyah, Y. Dwi, N. Azizah, and M. Hariani, "Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Rebusan Gagang Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Bacillus cereus* Penyebab Diare," Ilmu kefarmasian, vol. 5, no. 2, pp. 163–169, 2024, doi: 10.31764/lf.v5i2.21175.
 - [11] A. Z. Hanani, R. Dewanti-Hariyadi, and S. Nurjanah, "Profil Toksigenik Isolat Lokal *Bacillus cereus* Asal Nasi Goreng," repository.ipb.ac.id, 2023, [Online]. Available: <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/123596>
 - [12] Rizqullah, "Identification of Antibiotic-Resistant Gram Positive Bacteria from Broiler Caecum in The Slaughterhouse of Mataram City Jurnal: Jurnal Biologi Tropis," Biol. Trop., vol. 25, no. 1, pp. 551–562, 2025, doi: DOI: <http://doi.org/10.29303/jbt.v25i1.8466> pipet.
 - [13] B. M. A. Nour Mousa, "Antibiotic Resistance Profiles and Risk Factors of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* in a Large Tertiary Care Hospital in a Low- and Middle-Income Country," Sci. Rep., vol. 15, no. 1, pp. 1–10, 2025, doi: 10.1038/s41598-025-12384-x.
 - [14] M. A. Fareid and El-sherbiny, "Assessment of the Risk Associated with *Bacillus cereus* isolates and Potential Combat with Methanolic *Artemisia Vulgaris* Extract," Front. Microbiol., vol. 16, 2025, doi: 10.3389/fmicb.2025.1640200.
 - [15] Z. A. A. Sari, "Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode *Well Diffusion* dan *Kirby Bauer* Terhadap Pertumbuhan Bakteri," Med. Utama, vol. 02, no. 04, pp. 1156–1161, 2021.
 - [16] R. Hasanah and Y. R. Dewi, "Analisis Pola Resistensi Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* Pada Pasien Infeksi Saluran Kemih Di Laboratorium Pramita," Kesehat. paripurna, vol. 1, no. 3, pp. 302–306, 2024, doi: <https://doi.org/10.37985/plenaryhealth.v1i3.606>.
 - [17] J. Jung "Short Communication : Enterotoxin Genes and Antibiotic Susceptibility of *Bacillus cereus* Isolated from Garlic Chives and Agricultural Environment," pp. 10–16, 2022.,vol.21, no.3, p.70, 2022
 - [18] C. Microbiol, "Global status of antimicrobial resistance in clinical *Enterococcus faecalis* isolates : systematic review and meta - analysis," Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., vol. 23, no. 1, p. 80, 2024, doi: 10.1186/s12941-024-00728-w.
 - [19] N. Najah, "Karakteristik Dan Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Makanan Khas Melayu (Tempoyak) Sebagai Agensi Probiotik," Biol. Educ. Sci. Technol., vol. 6, no. 2, pp. 331–337, 2023, doi: 10.52121/biolokus.v6i2.7481.
 - [20] Nawra Nurvidilla, "Metode Penelitian Ilmiah Karakteristik dan Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Makanan Khas Melayu (Tempoyak) sebagai Agensi Probiotik," J. Pendidik. Kim. Fis. dan Biol., vol. 1, no. 5, pp. 11–16, 2025, doi: 10.61132/jupenkiqb.v1i5.609.
 - [21] S. R. Nurita, "Edukasi Tempoyak sebagai Sumber Probiotik untuk Kesehatan Ibu dan Anak," J. Abdimas Kesehat., vol. 4, no. 2, p. 209, 2022, doi: 10.36565/jak.v4i2.313.
 - [22] E. Mursyida, "Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tempoyak Dan Aktivitas Antimikroba Terhadap *Escherichia coli* (Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Tempoyak dan Aktivitas Antimikroba Terhadap *Escherichia coli*)," Pendidik. Dr., vol. 16, no. 1, pp. 59–69, 2022, doi: 10.22487/bioceb.v16i1.15833.
 - [23] Tata Anggraini and Ardi Mustakim, "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Tempoyak sebagai Fermentasi Tradisional Khas Jambi," Pentagon J. Mat. dan Ilmu Pengetah. Alam, vol. 3, no. 3, pp. 77–84, 2025, doi: 10.62383/pentagon.v3i3.736.
 - [24] Putri Sarmila Agustina, " Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak (AgNPs) Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap *Propionibacterium acnes* Dan *Staphylococcus aureus* Penyebab Jerawat". doi: <https://doi.org/10.35814/jifi.v23i2.1648>.
 - [25] R. Y. Asworo and H. Widwastuti, "Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak," Journal of Pharmaceutical Education vol. 3, no. 2, pp. 256–263, 2023, doi: 10.37311/ijpe.v3i2.19906.
 - [26] B. Satriawan and A. Wijaya, "Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Nilai Rendeman Ekstrak Daun

- Pepaya(Carica Papaya .L),” *Ilm. Jophus*, vol. 5, no. 01, pp. 10–17, 2023, doi: 10.46772/jophus.v5i1.728.
- [27] S. Mutriyah and L. Badriyah, “Pengaruh Perbedaan Suhu Maserasi Terhadap Prosentase Rendemen Ekstrak Temu Kunci (Boesenbergia rotunda L.),” *Sintesis*, vol. 5, no. 1, pp. 51–60, 2024, doi: 10.56399/jst.v5i1.180.
- [28] P. Pauzan, M. Halid, and W. R. Ratulangi, “Pengaruh Ekstrak Etanol pada Tomat (Solanum lycopersicum L .) pada *Staphylococcus epidermidis* secara in Vitro,” *Ilm. Kesehat.*, vol. 12, 2023, doi: <https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i1.1022>.
- [29] D. Hosea, S. Jofri, R. Kartika, and M. R. Aswat, “Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder pada Beberapa Ekstrak Tanaman Terhadap Bakteri Gram Positif,” *Kim. FMIPA*, vol. 3, no. 2, pp. 36–42, 2024.
- [30] M. Febry, “Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Metanol Batang Tanaman Bintaro (Cerbera manghas L.) terhadap Bibit Ikan Nila (Oreochromis niloticus),” *Fkip unmul*, vol. 3, no. 1, pp. 120–125, 2024.
- [31] N. Hidayati, “Uji Awal Untuk Skrining Fitokimia Pada Tumbuhan Famili Asteraceae Indonesia,” *Kimia*, pp. 253–262, 2022.
- [32] “Natural Alkaloids as Antimicrobial Agents : Mechanisms , Potentials and Challenges,” *Molecules*, vol. 31, no. 7, pp. 1–23, 2026, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules31071204>.
- [33] J. B. Science, “Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Matoa (Pometia pinnata) Leaves Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*,” *Biologiy*, vol. 14, no. 2, pp. 178–186, 2025, doi: <https://doi.org/10.33477/bs.v14i2.9376>.
- [34] M. Sánchez-ramos, “Therapeutic Value of Plant Saponins , Challenges and Opportunities : A Review,” *Sage*, vol. 21, no. 2, pp. 1–17, 2026, doi: 10.1177/1934578X261418409.
- [35] M. Umami, “Analisis Senyawa Fitokimia Dan Tren Penelitian Pada Daun Sirih Hijau (Piper batle L .),” *Pendidik. Biol.*, vol. 13, no. 2, pp. 108–127, 2025, doi: 10.25157/jpb.v13i2.19837.
- [36] L. U. D. Andalas, “Jurnal Hasil Penelitian Dan Pengkajian Ilmiah Eksakta,” *JPPIE*, vol. 04, no. 02, pp. 175–184, 2025, doi: <https://doi.org/10.47233/jppie.v1i2.502> SKRINING.
- [37] R. H. R. Arula, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bilajang Bulu (Merremia vitifolia (Burm.fil.) Hallier fil.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,” *J. Univ. Islam Negeri Alaudin*, vol. 91, 2021.
- [38] M. S. Rahmaan, “Profil Resistensi Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* pada Daging Sapi yang Dijual di Pasar Tradisional Provinsi Yogyakarta,” *Skripsi*, 2025.
- [39] M. S. Jessica Carlene Kurniady, Prof. Dr. drh. Agnesia Endang Tri Hastuti Wahyuni, “ntimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Cats with Digestive Disorders in Yogyakarta,” *Bio Web Conf.*, vol. 229, p. 02002, 2026, doi: 10.1051/bioconf/202622902002.
- [40] E. J. Bottone, “*Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen,” 2021, doi: 10.1128/CMR.00073-09.
- [41] B. Cereus, “Perbandingan Berbagai Metode Pengecatan Spora pada *Bacillus Cereus*,” *Lab. medis*, vol. 04, no. 02, p. 2021, 2022, doi: 10.31983/jlm.v4i2.8493.
- [42] M. P. S. Zulfan M. Alibasyah, Diana Setya Ningsih, “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Biduri (Calotropis gigantea) terhadap Aggregatibacter actinomycetemcomitans ATCC 29523,” *Cakradonya Dent. J.*, vol. 12, no. 1, pp. 56–63, 20223, doi: 10.24815/cdj.v12i1.17076.
- [43] D. I. Prasetya, M. Ingraini, and N. A. Ilsan, “Jurnal Mitra Kesehatan (jmk) Uji Sensitivitas Antibiotik Kotrimoksazol Terhadap Bakteri Salmonella sp . Dengan Metode Modifikasi Kirby-,” *Mitra Kesehat.*, vol. 02, no. 01, pp. 7–11, 2022, doi: 10.47522/jmk.v2i1.23.
- [44] N. Hendry and Y. Aldi, “Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from fermented durian flesh (tempoyak) against pathogenic and spoilage bacteria during storage,” *Earth Environ.*, vol. 347, no. 1, pp. 1–5, 2019, doi: 10.1088/1755-1315/347/1/012053.
- [45] D. Islmiyati, “Perbandingan Aktivitas Antibakteri Kloramfenikol Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif Secara In Silico Dan In Vitro dimana hasil pengujiannya kemudian diobservasi secara in vitro dengan analisis hardware laptop dengan windows 9 64 bit , software,” *Bina cipta Husada*, vol. 21, no. 2, pp. 1–8, 2025.
- [46] S. Alda, T. Rompas, D. S. Wewengkang, and D. A. Mpila, “Antibacterial Activity Test of Marine Organisms *Tunicates Polycarpa aurata* Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*,” *Fmipa*, vol. 11, no. 1, 2022, doi: 10.35799/pha.11.2022.39137.
- [47] N. R. Sofyana, “Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun manggis (Garcinia mangostana L) Terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*,” *Kesehatan*, vol. 11, no. 4, pp. 668–678, 2024, doi: <http://ejurnalmalahayati.ac.id/index.php/kesehatan>.
- [48] N. Hersila, “Senyawa Metabolit Sekunder (Tanin) pada Tanaman sebagai Antifungi,” *Embrio*, vol. 15, no. 15, pp. 16–22, 2023, doi: 10.31317/embrio.v15i1.882.
- [49] G. Khaksar and Kasemcholathan, “Durian (*Durio zibethinus L.*): Nutritional Composition, Pharmacological Implications, Value-Added Products, and Omics-Based Investigations,” *horticulturae*, vol. 10, no. 4, p. 342, 2024, doi: 10.3390/horticulturae10040342.

- [50] Mursyida, "Isolasi Bakteri asam laktat dari tempoyak dan aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*," *Biocelbes*, vol. 16, no. 1, pp. 59–69, 2022, doi: 10.22487/bioceb.v16i1.15833.
- [51] Anggita, "Mekanisme Kerja Antibiotik," *UMI Med.*, vol. 7, no. 1, pp. 46–58, 2022, doi: 10.33096/umj.v7i1.149.
- [52] T. H. Bamasri, "Daun kersen muntigia calabura sebagai antubakteri," *Fak. Kedokteran*, vol. 3, pp. 231–236, 2021, doi: <http://jurnal.globalhealthsciencegroup.com/index.php/JPPP> daun.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.