



**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI EDAMAME
(*Glycine max* (L) Merril) TERHADAP BAKTERI *E. COLI***

SKRIPSI

Oleh

**Diayu Putri Akhita
NIM 152010101098**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI EDAMAME
(*Glycine max* (L) Merril) TERHADAP BAKTERI *E. COLI***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Diayu Putri Akhita
NIM 152010101098**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

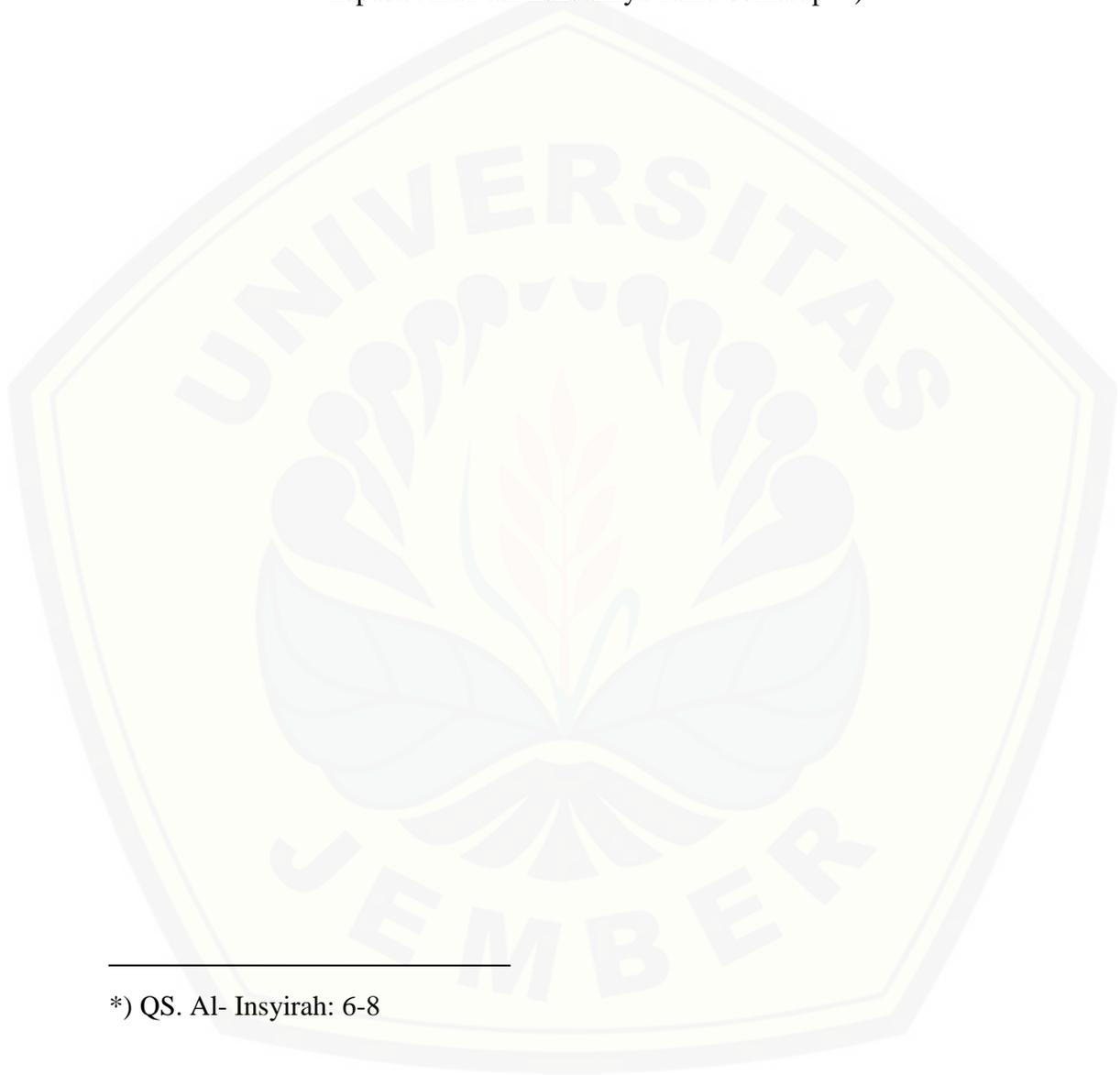
PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya tercinta, Ibunda Ina Nurani dan Ayahanda Andy Hadi Poerwono yang selalu memberikan kasih sayang, do'a, semangat, nasihat, serta pengorbanannya yang dilakukan setiap waktu;
2. Guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan bimbingan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadi manusia yang berilmu, beradab, dan bertakwa;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain, dan hanya kepada Allah lah hendaknya kamu berharap. *)



*) QS. Al- Insyirah: 6-8

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Diayu Putri Akhita

NIM : 152010101098

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine Max* (L) Merrill) Terhadap Bakteri *E. Coli* Dibandingkan Dengan Kotrimoksazol” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 25 April

2019

Yang menyatakan,

Diayu Putri Akhita

NIM 152010101098

SKRIPSI

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI EDAMAME
(*Glycine max* (L) Merrill) TERHADAP BAKTERI *E. COLI***

Oleh
Diayu Putri Akhita
NIM 152010101098

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Edy Junaidi, M.Sc.,Sp.M

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine Max* (L) Merrill) Terhadap Bakteri *E. coli* Dibandingkan dengan Kotrimoksazol” karya Diayu Putri Akhita telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 25 April 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji,

Ketua,

Anggota I,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP. 19700214 199903 2 001

dr. Cicih Komariah, Sp.M
NIP. 19740928 200501 2 001

Anggota II,

Anggota III,

dr. Edy Junaedi, M.Sc, Sp.M
NIP. 197508012003121003

dr. Septa Surya Wahyudi Sp.U
NIP. 197809222005011002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D, Sp.BA
NIP. 197304241999031002

RINGKASAN

Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* (L) Merrill) Terhadap Bakteri *E. coli*; Diayu Putri Akhita, 152010101098; 2018; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyakit infeksi masih merupakan masalah kesehatan dunia, baik di negara maju maupun berkembang, salah satunya Indonesia. Salah satu penyebab infeksi pada manusia adalah bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* adalah bakteri berbentuk batang, merupakan bakteri gram negatif, bersifat aerob fakultatif dan diklasifikasikan anggota keluarga dari *Enterobacteriaceae* dari kelas *Gammaproteobacteria*. Bakteri ini tumbuh sebagai flora normal di usus manusia dan mempunyai banyak peran penting. Namun bakteri ini dapat menjadi patogen bila jumlah di saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. Namun seiring perkembangan zaman, bakteri *E.coli* mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik. Sehingga dibutuhkan alternatif baru. Salah satu alternatif yang dapat berpotensi menjadi antibakteri baru adalah edamame. Edamame merupakan komoditas asli kacang kedelai yang berasal dari Jepang. Terdapat zat antibakteri golongan isoflavon yang terkandung dalam edamame. Genistein merupakan isoflavon utama pada kedelai edamame yang memiliki efek anti inflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Genistein, yang merupakan isoflavon kedelai radioprotektif dan inhibitor protein kinase, menghambat dari invasi bakteri patogen pada sel epitel mamalia. Genistein menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klinsiella pneumoniae* pada percobaan secara in vitro.

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental design*. Penelitian ini menggunakan rancangan *post test only control group design*. Sampel penelitian yakni bakteri *E.coli* yang didapatkan dari stok kultur di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Total sampel untuk semua kelompok berjumlah 25 terbagi pada lima kelompok.

Kelompok pertama sebagai kontrol positif, kelompok kedua sebagai kontrol negatif, dan sisanya yaitu K1, K2, K3 menjadi kelompok perlakuan yang

diberi ekstrak etanol biji edamame. Semua kelompok diberi perlakuan penanaman bakteri *E.coli* pada media MHA, lalu kelompok kontrol positif diberi perlakuan dengan pemberian antibiotik kotrimoksazol, sedangkan kelompok negatif dilakukan pemberian DMSO 10%. Pada kelompok perlakuan K1, K2, dan K3 diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol biji edamame konsentrasi bertingkat dari 100 mg/ml, 200 mg/ml, dan 400 mg/ml. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dan diamati hasilnya.

Hasil rata-rata dan standar deviasi dari diameter zona hambat pada media MHA masing-masing kelompok didapatkan kelompok K(+) $17,820 \pm 0,68$, kelompok K(-) $0,0 \pm 0,0$, kelompok K1 $0,260 \pm 0,89$, kelompok K2 $0,300 \pm 0,707$, kelompok K3 $0,360 \pm 0,114$. Setelah itu dilakukan uji normalitas pada hasil rata-rata tersebut menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dan dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene's Test*. Pada uji normalitas didapatkan $p > 0,05$ dan pada uji homogenitas didapatkan $p < 0,05$ yang berarti data tersebut normal namun tidak homogen. Hasil rata-rata diameter zona hambat dianalisis menggunakan metode *Kruskal-Wallis* dan didapatkan $p = 0,001$ yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada minimal dua kelompok. Setelah itu dilakukan uji *post hoc Mann Whitney* dan didapatkan perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol positif dan negative terhadap semua kelompok namun tidak ada perbedaan pada kelompok perlakuan, baik kelompok K1, K2 dan K3 terhadap semua kelompok.

Hasil dari penelitian ini dapat dijelaskan karena berbagai macam faktor seperti target pada bakteri *E.coli* tidak dapat dihambat oleh genistein, faktor ekstrak kasar yang masih mengandung glukosa dan perbedaan varian dari kedelai edamame yang dipakai. Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah tidak terdapat efek antibakteri dari ekstrak etanol biji edamame *Glycinne max L.* (Merril) terhadap bakteri *Eschericieae coli* secara in vitro.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max* (L) Merril) Terhadap Bakteri *E. coli* Dibandingkan dengan Kotrimoksazol”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada pihak-pihak sebagai berikut:

1. Drs. Moh. Hasan, M.Sc, Ph.D selaku Rektor Universitas Jember atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama melakukan penelitian di Kantor Pusat Universitas Jember;
2. dr. Supangat, M.Kes.,Ph.D,Sp.BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. dr. Edy Junaidi, M.Sc, Sp.M selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dosen Penguji I dan dr. Cicih Komariah, Sp. M selaku Dosen Penguji II atas segala saran dan masukan yang membangun dalam penulisan karya ilmiah ini;
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas bimbingan dan bantuannya selama menjadi mahasiswa;
6. Orang tua tercinta Ibunda Ina Nurani dan Ayahanda Andy Hadi Poerwono yang tidak pernah lelah memberikan do’a, dukungan, kasih sayang, nasihat, serta pengorbanannya selama ini;
7. Kakak Al Indy Marludzy tersayang yang selalu memberikan semangat dan kasih sayangnya selama ini;

8. Rekan kerja seperjuangan sekaligus sahabat-sahabat tercinta Kamila Rahma, Zulaikha Rizqina Rachmawati, Rena Hardianty, Nadhifah Athaya Putri, Asri Ayu Firdausi, Ni Made Trismarani Sultradewi dan Aditya Primadana terimakasih atas kerja sama, semangat, dukungan, dan bantuan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
9. Rekan sejawat Bagus Aditya Ansharullah, Sixma Rizky Kurniawati dan Toyyibatul Hidayati yang turut membantu memberikan semangat dan bantuan dalam penulisan skripsi ini;
10. Keluarga besar Coccyx 2015 yang telah memberikan bantuan, semangat, dan apresiasi selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
11. Sahabat-sahabat Diwanis tersayang Chlara Tariany Alvionicke dan Siti Khilmiyah yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan bantuannya selama ini;
12. Keluarga besar CIMSA UNEJ yang juga banyak memberikan semangat dan dukungan sejak bergabung dengan CIMSA sampai sekarang;
13. Keluarga besar BEM Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang memberikan semangat dan dukungan selama ini;
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 25 April 2019

Penulis

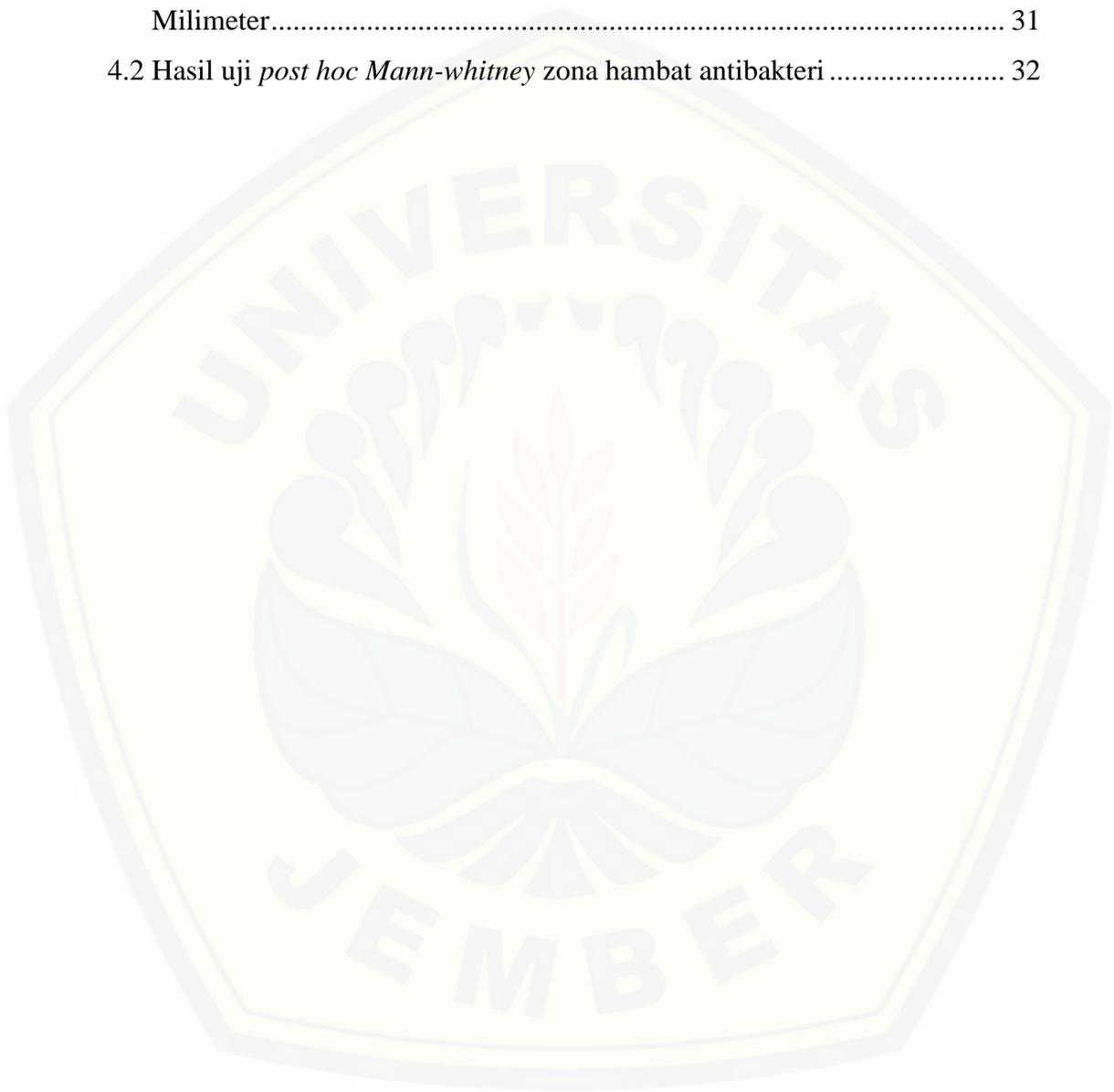
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
RINGKASAN	viii
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Edamame (<i>Glycine max</i> (L) Merr.)	5
2.1.1 Taksonomi Edamame	5
2.1.2 Morfologi Edamame	6
2.1.3 Kandungan Edamame.....	7
2.2 <i>Escherichiae coli</i>	8
2.2.1 Morfologi <i>E. coli</i>	9
2.2.2 Klasifikasi <i>E. coli</i>	9
2.2.3 Struktur antigen <i>E.coli</i>	10
2.2.4 Patogenesis <i>E. coli</i>	10
2.2.5 Strain <i>E.coli</i>	12
2.3 Kotrimoksazol	14
2.3.1 Farmakodinamik Kotrimoksazol	14
2.3.2 Farmakokinetik Kotrimoksazol	15
2.3.3 Efek Samping Kotrimoksazol.....	15
2.4 Uji Aktivitas Antibakteri	15
2.4.1 Metode Difusi	16
2.4.2 Metode Dilusi	17
2.5 Kerangka Konsep	18
2.6 Hipotesis	19
BAB 3. METODE PENELITIAN	20
3.1 Jenis Penelitian	20
3.2 Rancangan Penelitian	21
3.3 Sampel Penelitian	22
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.4.1 Tempat Penelitian	22

3.4.2 Waktu Penelitian.....	22
3.5 Variabel Penelitian	22
3.4.1 Variabel Bebas.....	22
3.4.2 Variabel Terikat.....	22
3.4.3 Variabel Terkendali	22
3.6 Definisi Operasional	23
3.7 Alat dan Bahan	24
3.8 Prosedur Penelitian	24
3.8.1 Persiapan Alat dan Bahan.....	24
3.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Edamame.....	24
3.8.3 Pembuatan Larutan Mc Farland	24
3.8.4 Pembuatan Media Mueller Hinton Agar	25
3.8.5 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Edamame.....	25
3.8.6 Pembuatan Suspensi Bakteri	25
3.8.7 Pembuatan Kontrol Negatif (K-)	26
3.8.8 Uji Aktivitas Antibakteri	26
3.9 Analisis Data	26
3.10 Alur Penelitian	28
3.10.1 Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Edamame	28
3.10.2 Alur Pengenceran Ekstrak Etanol Biji Edamame.....	29
3.10.3 Alur Uji Aktivitas Antibakteri.....	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Hasil	31
4.2 Pembahasan	31
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Definisi operasional variabel penelitian.....	23
4.1 Hasil Pengukuran Zona Hambat pada Media MHA dalam Satuan Milimeter.....	31
4.2 Hasil uji <i>post hoc Mann-whitney</i> zona hambat antibakteri	32

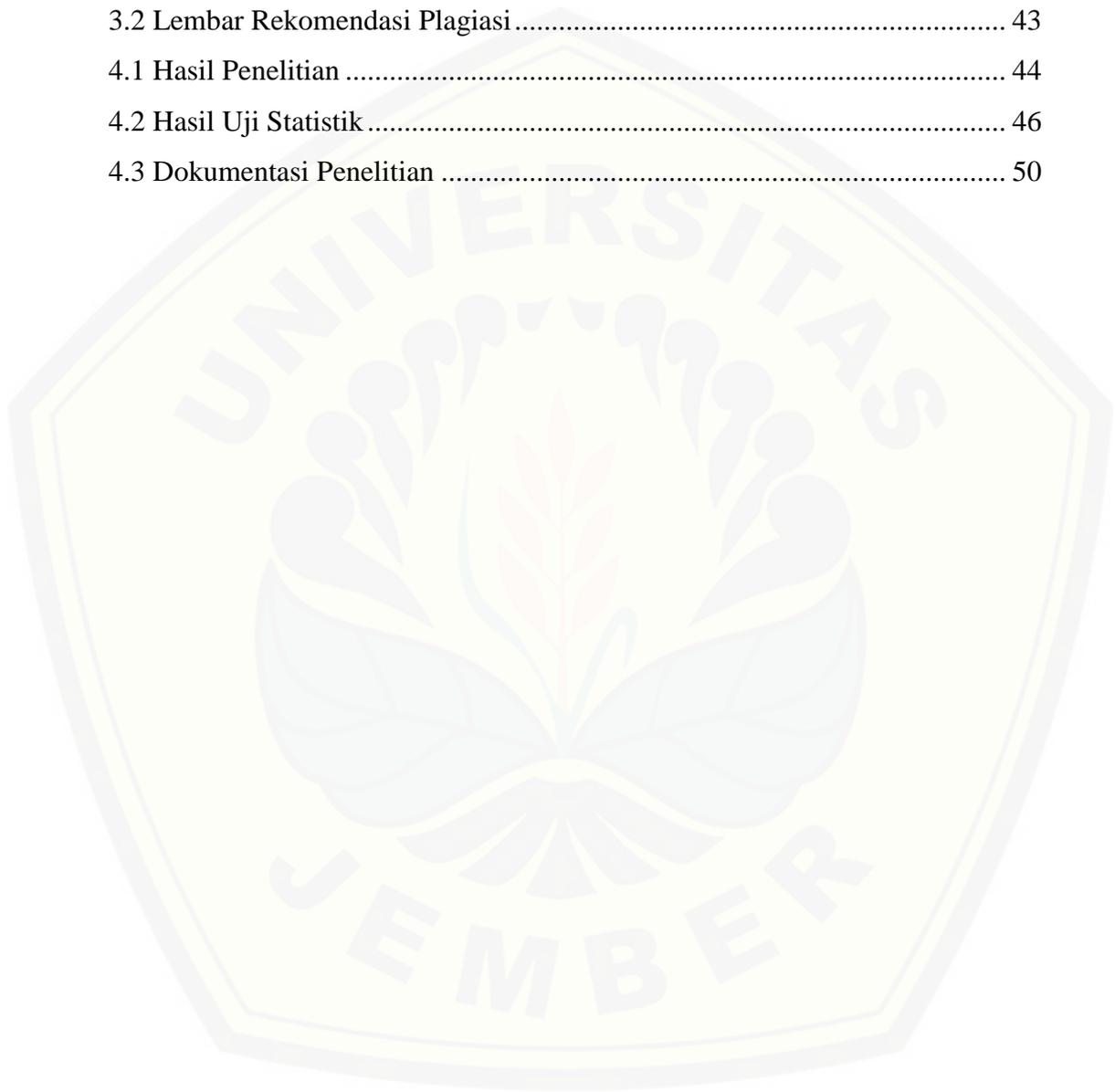


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi Edamame	6
2.2 Kandungan Edamame	7
2.3 Skema Kerangka Konsep	22
3.1 Rancangan penelitian	24
3.2 Perhitungan jumlah sampel berdasar perangkat lunak G-power 3.0.10.....	25
3.3 Skema pembuatan ekstrak etanol biji edamame	32
3.4 Skema pengenceran ekstrak etanol biji edamame.....	33
3.5 Skema uji aktivitas antibakteri	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Surat Persetujuan Penelitian	41
3.2 Lembar Rekomendasi Plagiasi	43
4.1 Hasil Penelitian	44
4.2 Hasil Uji Statistik	46
4.3 Dokumentasi Penelitian	50



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi masih merupakan masalah kesehatan dunia, baik di negara maju maupun berkembang, salah satunya Indonesia (Anggun, P., 2015). Penyakit infeksi dapat terjadi pada seluruh bagian tubuh, seperti saluran pernafasan, saluran cerna serta saluran kemih. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (2013) diare memiliki insiden dan prevalensi pada semua umur di Indonesia sebesar 3,5 % dan 7,0 %, sedangkan menurut Musdalipah (2018) angka kejadian infeksi saluran kemih di Indonesia yaitu sekitar 39%-60%. Salah satu penyebab infeksi pada manusia adalah bakteri *Escherichia coli*. Penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* contohnya yaitu Infeksi Saluran Kemih (ISK). Penyebab utama lebih dari 85% kasus ISK yakni bakteri gram negatif yang merupakan flora normal saluran cerna, biasanya yang tersering yaitu *E. coli*, diikuti oleh *proteus*, *klebsiella*, dan *Enterobacter* (Syafada, 2013). Menurut WHO (2014) *E.coli* menjadi penyebab paling umum infeksi aliran darah di segala usia, bakteri ini juga terkait dengan infeksi intra-abdomen seperti peritonitis, penyebab meningitis pada neonatus, dan salah satu agen penyebab utama *foodborne infection* di seluruh dunia.

Escherichia coli adalah bakteri berbentuk batang, merupakan bakteri gram negatif, bersifat aerob fakultatif dan diklasifikasikan anggota keluarga dari *Enterobacteriaceae* dari kelas *Gammaproteobacteria*. Bakteri ini dapat tumbuh dengan cepat di bawah kondisi optimal dan bereplikasi setiap 20 menit. Bakteri ini tumbuh sebagai flora normal di usus manusia dan mempunyai banyak peran penting. Namun bakteri ini dapat menjadi patogen bila jumlah di saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus (Noviana, H., 2004).

Penatalaksanaan infeksi berhubungan dengan pemberian antibiotik, untuk mencegah resistensi mikroba dibutuhkan penggunaan antibiotik yang rasional. Penelitian yang dilakukan oleh Seta et al (2015) menyimpulkan bahwa hampir semua bakteri *Escherichia coli* yang ditemukan pada penelitian tersebut peka terhadap fosfomisin (92,4%), imipenem (85,7%) dan amikasin (82,2%).

Namun sebagian besar bakteri telah resisten terhadap kotrimoksazol (83,1%), seftriakson (58,8%) dan gentamisin (58%). Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Renaldo dan Saputra (2015) juga menyimpulkan bahwa Antibiotik dengan kepekaan terhadap *E.coli* paling rendah antara lain adalah Ampisilin-sulbaktam, Ceftriaxone, Cefotaxime dan Cotrimoxazol, Ciprofloxacin dan Levofloxacin dengan kepekaan kurang dari 30%. Selin itu, WHO (2014) melaporkan resistansi terhadap fluoroquinolones umumnya tampaknya lebih tinggi daripada generasi ketiga sefalosporin. Mirip dengan resistensi terhadap sefalosporin generasi ketiga, ada laporan resistensi fluoroquinolone pada *E. coli* melebihi 50% di lima wilayah WHO. Untuk itu diperlukan alternatif antibakteri baru.

Salah satu potensi alternatif antibakteri baru yaitu edamame. Edamame merupakan komoditas asli kacang kedelai yang berasal dari Jepang. Jenis kacang-kacangan ini dipanen dan dikonsumsi saat masih belum matang sepenuhnya, saat polongnya masih muda dan berwarna hijau. Edamame merupakan spesies yang sama seperti kedelai kuning, yaitu *Glycine max* (L.) Merrill, namun edamame memiliki aroma kacang-kacangan yang lebih kuat, tekstur yang lebih lembut, rasa yang lebih manis, dan biji yang berukuran lebih besar daripada kedelai kuning, serta nutrisi yang terkandung dalam edamame lebih mudah dicerna oleh tubuh (Rackis, 1978). Menurut Samsu (2003), di Indonesia edamame telah dibudidayakan sejak awal abad ke-17, di awal tahun delapan puluhan dilakukan pengembangan edamame untuk konsumsi komunitas orang Jepang di Jakarta. Di Indonesia, tempat yang cocok untuk budidaya edamame salah satunya ada di Kabupaten Jember, Jawa Timur.

Edamame memiliki banyak kandungan gizi yang baik untuk tubuh. Menurut Johnson et al. (1999) serta Nguyen (2001), edamame mengandung 100 mg/100 g vitamin B2, 1 mg/100 g vitamin B3, dan 27% vitamin C. Selain itu, terdapat zat antibakteri golongan isoflavon yang terkandung dalam edamame (Siddiq dan Prabawati, 2016). Genistein merupakan isoflavon utama pada kedelai edamame yang memiliki efek anti inflamasi, antibakteri, dan antioksidan (Yang et al., 2012). Genistein, yang merupakan isoflavon kedelai radioprotektif dan inhibitor protein kinase, menghambat dari invasi bakteri patogen pada sel epitel

mamalia. Genistein menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klinsiella pneumoniae* pada percobaan secara *in vitro* (Hong et al., 2006). Sehingga genistein berpotensi menjadi salah satu antibiotik alami.

Namun masih terdapat perdebatan mengenai potensi antibakteri dari biji edamame. Beberapa penelitian menyatakan biji edamame memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* seperti yang dilakukan Chalestori (2017) dan Sharma (2015). Sebaliknya pada penelitian yang dilakukan Hong (2006) dan Verdrengh (2004) menyatakan tidak ditemukannya aktivitas antibakteri dari ekstrak biji edamame.

Berdasarkan uraian tersebut, potensi antibakteri pada edamame dapat diteliti pengaruhnya terhadap pertumbuhan *E. coli*. Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan nilai jual edamame sebagai salah satu komoditas unggulan Kabupaten Jember. Penulis dalam hal ini ingin meneliti efektivitas ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* (L) Merrill) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, rumusan masalah penelitian ini adalah apakah pemberian ekstrak biji edamame (*Glycine max* (L) Merrill) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* secara *in vitro*

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini Antara lain:

Mengetahui efek anti bakteri ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* (L) Merrill) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*

1.4 Manfaat

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini antara lain:

a. Manfaat Keilmuan

Manfaat keilmuan penelitian adalah dapat dijadikannya hasil penelitian sebagai dasar penelitan selanjutnya mengenai aktivitas kandungan biji edamame (*Glycine max* (L) Merrill) sebagai antibakteri.

b. Manfaat Aplikatif

Manfaat aplikatif penelitian adalah dapat menambah ilmu pengetahuan bagi masyarakat mengenai terapi alternatif penyakit infeksi. Selain itu dapat meningkatkan potensi komoditas lokal unggulan Kabupaten Jember.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Edamame (*Glycine max* (L) Merril)

Edamame (dibaca ay-dah-MAH-may) adalah istilah Jepang untuk kedelai sayuran hijau yang dimasak dan disajikan sebagai camilan dalam bentuk polong. Biasanya disajikan beserta kulitnya seperti penyajian kacang tanah. Kacang hijau akan keluar dari polong secara langsung ke mulut orang yang memakannya (Shurtleff dan Aoyagi, 2009).

Edamame merupakan jenis kedelai yang dipanen saat polongnya masih muda dan berwarna hijau, tepat sebelum kedelai matang dan kering, yaitu saat stadia R6 (pengisian biji 80 – 90% pengisian) (Asadi, 2009). Edamame dapat dipasarkan dalam bentuk segar (*fresh edamame*) atau dalam keadaan beku (*frozen edamame*). Kedelai edamame merupakan produk unggulan Jember karena mempunyai berbagai keunggulan, yaitu produktivitas tinggi, kandungan gizi yang lebih, kecepatan waktu panen, pasar ekspor edamame masih luas dan yang terakhir adalah harga edamame yang cukup tinggi di pasar ekspor (Firmansyah dan Dhuha, 2014).

2.1.1 Taksonomi Edamame

Tanaman Edamame (*Glycine Max* (L) Merril) mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Polypetales
Familia	: Leguminosa
Subfamilia	: Papilionoideae
Genus	: <i>Glycine</i>
Species	: <i>Glycine max</i> (L.) Merrill (Pambudi, 2013)



Gambar 2.1 Edamame
Sumber. Mitra Tani Dua Tujuh

2.1.2 Morfologi Edamame

Edamame merupakan tanaman semusim yang tumbuh tegak mempunyai daun lebat dengan beragam morfologi. Tinggi tanaman edamame berkisar antara 30 sampai lebih dari 50 cm, bercabang sedikit atau banyak, bergantung pada varietas dan lingkungan hidupnya (Samsu, 2001). Tanaman kedelai memiliki daun majemuk yang terdiri atas tiga helai anak daun (trifoliolat) dan umumnya berwarna hijau muda atau hijau kekuning-kuningan (Irwan, 2006). Kedelai berbunga sempurna yaitu memiliki benang sari dan putik dalam satu bunga. Mahkota bunga akan rontok sebelum membentuk polong (Rukmana dan Yuniarsih, 1996). Tanaman kedelai di Indonesia mulai berbunga pada umur 30-50 hari setelah tanam (Fahrudin, 2000).

Pada gambar 2.1 dapat dilihat polong edamame bulat agak gepeng berwarna hijau terang hingga hijau tua, biji yang telah tua berbentuk elips berwarna coklat muda. Edamame memiliki ukuran panjang polong sebesar 6-7 cm dan mempunyai jumlah biji sebanyak 2 hingga 4 tiap polongnya. Edamame berbeda dengan kedelai lainnya, karena memiliki biji yang lebih besar, rasanya lebih manis, teksturnya lebih halus, dan lebih mudah dicerna (Widati, F, 2012). Ukuran biji kedelai edamame jauh lebih besar dari kedelai biasa, bobot dari 100 biji bisa mencapai 30 g, warna bulu abu-abu, tekstur biji dan polong lembut, dan potensi hasil polong segar sekitar 7-10 ton/ha (Shanmugasundaram dan Yan, 1991).

2.1.3 Kandungan Edamame

Edamame mengandung 40% protein, 33% karbohidrat, 20% lemak (tanpa kolesterol), dan 6% serat. Selain kandungan gizi tersebut, edamame juga mengandung kalsium, zat besi, kalium, asam askorbat, dan vitamin E. Kandungan protein yang tinggi dan kandungan lemak yang rendah serta asam amino dapat mencegah timbunan kolesterol pada dinding pembuluh darah dan memberikan efek yang baik bagi tekanan darah (Widati dan Hidayat, 2012). Dengan demikian, edamame berpotensi makanan yang ideal untuk konsumen yang menginginkan makanan rendah lemak tetapi tinggi protein.

Terdapat beberapa kandungan pada edamame yang sudah diteliti dari varian yang ada di Jepang dan Colorado, meskipun berbeda varian, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan (Johnson *et al.*, 1999). Kandungan edamame dapat dilihat pada tabel berikut:

Composition	Value/100 g	
	Japan	Colorado
Energy (Kcal)	582	573
Water (g)	71.1	71.1
Protein (g)	11.4	12.4
Lipids (g)	6.6	7.1
Carbohydrates (g)	7.4	8.3
Fiber (g)	1.9	3.2
Dietary fiber (g)	15.6	13.8
Ash (g)	1.6	1.6
Calcium (mg)	70.0	72.0
Phosphorus (mg)	140	148
Iron (mg)	1.7	1.2
Sodium (mg)	1.0	1.5
Potassium (mg)	140	145
Carotene (mg)	100	89
Vitamin B1 (mg)	0.27	0.27
Vitamin B2 (mg)	0.14	0.14
Niacin (mg)	1.0	1.0
Ascorbic Acid (g)	27.0	17.0

Gambar 2.2 Kandungan edamame (Johnson *et al.*, 1999).

Seperti kedelai, edamame diteliti juga memiliki kandungan antioksidan golongan isoflavon (Siddiq dan Prabawati, 2016). Edamame memiliki kandungan protein, asam oleat, aglikon isoflavon, gula, dan asam amino, yang dapat

meningkatkan nilai gizi dan rasa (Rigo et al. 2015). Menurut Preedy (2013), isoflavon yang terkandung dalam edamame diantaranya genistein, daidzein, dan glisitein. Genistein yang merupakan salah satu isoflavon utama pada kedelai edamame memiliki efek antibakteri, antioksidan dan antiinflamasi (Yang et al., 2004). Kandungan isoflavon pada edamame rata-rata sebesar 92,81 $\mu\text{g/g}$ dan genistein rata-rata sebesar 19,79 $\mu\text{g/g}$ (Mebrahtu et al., 2004).

Menurut Krisnawati (2017) kandungan isoflavon yang terdapat pada kedelai 3 mg/g bobot kering (Kudou et al. 1991), berbentuk senyawa aglikon (*aglycone*) dan glukosid (*glucoside*). Senyawa aglikon utama terdiri atas genistein, daidzein, dan glysitein, sedangkan bagian utama senyawa glukosid adalah daidzin, genistin, dan glycetin. Genistein merupakan isoflavon utama pada kedelai dengan kandungan mencapai 75% dari total isoflavon, namun jenis senyawa isoflavon genistin, daidzin, dan glysitin cenderung mempunyai aktivitas fisiologis kecil (Seo and Morr 1984).

Genistein, yang merupakan isoflavon kedelai radioprotektif dan inhibitor protein kinase, menghambat dari invasi bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* pada sel epitel mamalia (Hong et al., 2006). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa inhibitor protein kinase, termasuk genistein, menghambat internalisasi bakteri patogen (Rosenshine et al. 1992, Tang et al. 1994). Genistein juga bertindak sebagai agen penahan penghalang, menghambat invasi ekstraintestinal bakteri enterik (Well et al. 1999). Kandungan ini juga menghambat invasi in vitro banyak spesies bakteri, salah satunya *E. coli* enteropatogenik (Crane et al. 1999).

Penelitian pada Hong (2006) mengatakan bahwa: (1) genistein mengurangi pertumbuhan bakteri in vitro dengan menghambat topoisomerase IV, dan (2) tidak ada penghambatan pertumbuhan setelah 15 jam inkubasi karena degradasi genistein dalam kultur atau perkembangan bakteri. Genistein adalah penghambat topoisomerase DNA (McCabe dan Orrenius, 1993) yang berpartisipasi dalam berbagai aspek metabolisme DNA, dan banyak inhibitor topoisomerase bakteri bertindak sebagai agen antibakteri (Dong et al., 2000).

Mekanisme genistein yang menghambat *E.coli* diduga melalui cara menghambat aktivitas enzim topoisomerase IV dari bakteri *E.coli*. Sehingga DNA baru dan lama dari bakteri *E.coli* tetap terhubung dan akhirnya tidak terjadi replikasi karena DNA tersebut tidak terurai (Hong *et al.*, 2004).

2.2 *Escherichiae coli*

Escherichiae coli adalah bakteri gram negatif dalam sel tunggal atau berpasangan bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini tumbuh sebagai flora normal di usus manusia dan mempunyai banyak peran penting. Namun bakteri ini dapat menjadi patogen bila jumlah di saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus (Noviana, 2004). Fungsi utama dari *E.coli* salah satunya berperan membantu dalam proses pencernaan termasuk pembusukan sisa-sisa makanan dalam usus besar. Fungsi lainnya adalah memproduksi vitamin K melalui proses pembusukan sisa makan. Vitamin K berfungsi untuk pembekuan darah misalkan saat terjadi perdarahan seperti pada luka/mimisan Vitamin K bisa membantu menghentikannya (Denis, 2014).

2.2.1 Morfologi *E. coli*

Escherichiae coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang yang mempunyai tiga lapisan, yaitu membran sitoplasma, peptidoglikan, dan membran luar. Peptidoglikan kaku menentukan bentuk batang (Feingol *et al.*, 2008). Peptidoglikan dalam bakteri Gram negatif memiliki struktur lebih kompleks dibandingkan Gram positif. Membran luarnya terdiri dari liposakarida, protein, dan lipid (Febrika, 2012).

Bakteri ini mempunyai ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , beberapa strain memiliki kapsul dan tidak membentuk spora, bersifat anaerob fakultatif dan kebanyakan bersifat motil dengan menggunakan flagella (Brooks *et al.*, 2013). Sebagian besar strain *Escherichia coli* bersifat mikroaerofilik yaitu butuh oksigen namun masih bisa hidup tanpa oksigen. Beberapa strain lainnya bersifat hemolisis sehingga ketika ditanam di media agar darah akan terlihat hemolisis β (hemolisis total) sedangkan jika ditanam di media *Eosin Methylen Blue* (EMB) akan tampak

warna yang khas yaitu hijau metalik dan akan terlihat koloni berwarna kilat logam (Nygren *et al.*, 2012).

Escherichia coli yang patogen dapat hidup optimal dalam kisaran pH 4,4-8,5 dan pada suhu 37°C. Bakteri ini relatif sensitif terhadap panas dan inaktif pada suhu pasteurisasi atau selama pemasakkan makanan (Suardana dan Swarcita, 2009).

2.2.2 Klasifikasi *E. coli*

Menurut *Bergey's Manual of Systemic Biology* dalam Jawetz *et al.*, (2001), klasifikasinya yaitu:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proterobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

2.2.3 Struktur antigen *E.coli*

Tiga struktur antigen utama permukaan pada *E. coli* adalah dinding sel, kapsul dan flagela. Dinding sel *E. coli* berupa lipopolisakarida yang bersifat pirogen dan menghasilkan endotoksin yang diklasifikasikan sebagai antigen O. Antigen O resisten terhadap alkohol dan panas, biasanya terdeteksi oleh aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Terkadang penyakit spesifik berhubungan dengan antigen O, seperti dapat ditemukan pada penyakit infeksi saluran kemih dan diare. Kapsul *E. coli* berupa polisakarida yang dapat melindungi membran luar dari fagositik dan sistem komplemen dan diklasifikasikan sebagai antigen K. Flagela *E. coli* terdiri dari protein yang bersifat antigenik dan dikenal sebagai antigen H. Antigen ini dapat didenaturasi oleh panas dan alkohol. Faktor virulensi *E. coli* juga disebabkan oleh enterotoksin,

hemolisin, kolisin, siderophor, dan molekul pengikat besi (aerobaktin dan entrobaktin) (Quinn *et al.* 2002; Brooks *et al.*, 2008; Hendrayati, 2012).

2.2.4 Patogenesis *E. coli*

Escherichia coli adalah kuman oportunitis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan travelers diarrhea, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh yang lain di luar usus seperti infeksi saluran kemih. Tempat yang paling sering terkena infeksi *Escherichia coli* adalah saluran kemih dan tempat-tempat lain di rongga perut (Jawetz *et al.*, 2001).

2.2.4.1 Patogenesis *E. coli* di Ekstraintestinal

Bakteri uropathogen penyebab tersering ISK adalah kelompok *Escherichia coli*, *Candida albican*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Proteus mirabilis* (Bimantara, *et al.*, 2016). *E.coli* merupakan penyebab paling banyak untuk infeksi saluran kencing terutama pada wanita muda (Ramadanti, 2008). Mekanisme yang paling sering menyebabkan terjadinya ISK adalah dengan proses ascending, dimana bakteri dari saluran cerna menjadi sangat dominan. Lebih dari 95% ISK disebabkan oleh *Enterobacteriaceae* dan *E. faecalis*. Dari golongan *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* adalah bakteri yang sangat dominan menyebabkan ISK, diperkirakan pada 90% penderita rawat jalan dan 50% pada rawat inap (Syukri, 2008). Gejala infeksi saluran kemih yaitu sering berkemih, disuria, hematuria, dan piuria. Pada infeksi saluran kemih yang letaknya dibagian atas maka akan timbul pula gejala nyeri pinggang dan demam yang sangat tinggi yaitu mencapai lebih dari sama dengan 39°C. Antigen yang cukup berperan dalam infeksi saluran kemih bagian atas yaitu antigen K, sedangkan antigen O hampir berperan pada seluruh infeksi. Antigen H berperan pada kejadian nefropatogenik akibat infeksi *E. coli* (Jawetz *et al.*, 2008).

Selain menyebabkan infeksi saluran kemih, sepsis, dan meningitis neonatal adalah sindrom infeksi ekstraintestinal yang paling banyak diteliti yang

disebabkan oleh *Escherichiae coli* (Johnson *et al.*, 2003). Meningitis neonatal adalah penyakit akut pada sistem saraf pusat penyebab morbiditas dan mortalitas yang penting di seluruh dunia. Reaksi peradangan melibatkan meninges, ruang subarachnoid dan pembuluh parenkim otak dan berkontribusi pada cedera neuronal. Pola penyakit awal dan akhir dari penyakit ini telah terjadi terkait dengan infeksi bakteri sistemik selama bulan pertama kehidupan (Barichello *et al.*, 2013). Invasi *E. coli* dari sawar darah otak adalah prasyarat untuk penetrasi ke otak dan membutuhkan faktor inang spesifik mikroba serta molekul pensinyalan spesifik mikroba dan inang spesifik. Studi terbaru mengidentifikasi mikroba tambahan dan faktor host yang berkontribusi terhadap invasi *E. coli* pada sawar darah otak dan dijelaskan mekanisme yang mendasarinya (Kim, 2012).

Sepsis *E.coli* umumnya merupakan infeksi oportunistis pada tubuh dengan kondisi tertentu, seperti neutropeni, sirosis, pyelonephritis. Bakteri akan masuk ke peredaran darah. Pada pasien dengan neutropeni atau sirosis, terjadinya sepsis akibat ketidakmampuan tubuh untuk mengeliminasi bakteri meskipun dengan kadar yang rendah. Pasien dengan pyelonephritis akan mengalami sepsis bakteri gram negatif karena meningkatnya akses bakteri ke sirkulasi melebihi pertahanan tubuh. Kehadiran *E.coli* pada peredaran darah menyebabkan syok sepsis akibat dari efek TNF yang melepaskan makrofag, karena distimulasi oleh endotoksin bakteri (Rubin, 2009).

2.2.4.2 Patogenesis *E. coli* di Intraintestinal

Pada intraintestinal, *Escherichia coli* sering menyebabkan penyakit diare. Pada diare karena infeksi bakteri paling tidak ada dua mekanisme yang bekerja, yaitu peningkatan sekresi usus dan penurunan absorpsi di usus. Infeksi bakteri menyebabkan inflamasi dan mengeluarkan toksin yang menyebabkan terjadinya diare dan infeksi yang invasif mengakibatkan perdarahan atau adanya leukosit dalam feses. Pada dasarnya mekanisme terjadinya diare akibat kuman enteropatogen meliputi penempelan bakteri pada sel epitel dengan atau tanpa kerusakan mukosa, invasi mukosa, dan produksi enterotoksin atau sitotoksin.

Bakteri dapat menggunakan satu atau lebih mekanisme tersebut untuk dapat mengatasi pertahanan mukosa usus (Zein *et al.*, 2004).

2.2.5 Strain *Escherichia coli*

Endotoksin dari beberapa strain *E. coli* dapat menjadi patogen dan menyebabkan berbagai penyakit infeksi. Endotoksin strain *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit infeksi, antara lain:

a. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

ETEC adalah nama yang diberikan kepada sekelompok *E. coli* yang menghasilkan racun khusus yang merangsang lapisan usus yang menyebabkan mereka mengeluarkan cairan berlebihan, sehingga menghasilkan diare. Racun dan penyakit yang disebabkan ETEC tidak terkait dengan *E. coli* O157: H7. ETEC merupakan penyebab penting dari penyakit diare, terutama traveler's diarrhea dan penyebab terbanyak diare pada anak di negara dengan pendapatan rendah. Strain bakteri ini menghasilkan dua racun, racun yang stabil terhadap panas (dikenal sebagai ST) dan racun yang labil terhadap panas (LT). Racun ini akan dikeluarkan saat bakteri melekat pada mukosa usus manusia sehingga menyebabkan secretory diarrhea seperti pada kolera. Toksin yang dihasilkan akan masuk ke mukosa intestinal dan menyebabkan hipermotilitas maka terjadilah diare (CDC, 2014).

b. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

EPEC menjadi penyebab diare pada bayi dan anak. Jenis diare yang ditimbulkan yaitu diare encer yang Sembuh sendiri tetapi dapat juga menjadi kronik. Mekanisme EPEC dalam menyebabkan diare yaitu EPEC adhesi pada mukosa intestinal yang akan mengakibatkan kerusakan mikrovili yang ada pada mukosa intestinal sehingga penyerapan nutrisi terganggu dan timbul diare (Croxen *et al.*, 2013).

c. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

Infeksi EIEC menyebabkan sindrom yang identik dengan shigellosis, dengan diare yang banyak dan demam tinggi. Strain bakteri ini

menimbulkan penyakit dengan cara menginvasi sel epitel mukosa intestinal sehingga menimbulkan lesi inflamasi dan juga ulkus (Croxen et al., 2013).

d. *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

Anggota patotipe yang paling terkenal ini adalah strain O157: H7, yang dapat menyebabkan diare berdarah dan tidak ada demam. EHEC dapat menyebabkan sindrom hemolitik-uremik dan gagal ginjal mendadak. Ia menggunakan fimbriae untuk perlekatan (*E. coli* common pilus, ECP), cukup invasif dan memiliki toksin shiga yang dapat menimbulkan respons peradangan yang serius (Rendón, 2007).

e. *Enterogregative Escherichia coli* (EAEC)

Dinamakan demikian karena mereka memiliki fimbriae yang mengumpulkan sel-sel kultur jaringan, EAEC berikatan dengan mukosa usus untuk menyebabkan diare encer tanpa demam. EAEC bersifat noninvasif. Mereka menghasilkan hemolisin dan enterotoksin ST yang mirip dengan ETEC (Croxen et al., 2013). EAEC dapat menyebabkan diare akut dan kronik dengan durasi rata-rata >14 hari dan sering terjadi di negara berkembang yang ditularkan melalui makanan. Ciri diare yang ditimbulkan adalah watery diarrhea dan bahkan hingga diare berdarah (Jawetz et al., 2008).

f. *Uropathogenic Escherichia coli* (UPEC)

Uropathogenic E. coli (UPEC) merupakan penyebab pada 90 % infeksi saluran kemih (ISK) pada individu dengan anatomi normal. Pada infeksi ascending, bakteri pada tinja mengkolonisasi uretra dan menyebar ke kandung kemih lalu ke ureter dan ke ginjal (menyebabkan pielonefritis), atau prostat pada pria. Wanita lebih rentan terinfeksi karena struktur uretra yang lebih pendek. Strain ini menggunakan P fimbriae (pili terkait pielonefritis) untuk mengikat sel urothelial saluran kemih dan mengkolonisasi kandung kemih. Strain ini menghasilkan alfa dan beta-

hemolisin, yang menyebabkan lisis sel-sel epitel saluran kemih (Todar, 2007).

2.3 Kotrimoksazol

Kotrimoksazol adalah contoh antibiotik yang merupakan *first-line therapy* untuk infeksi saluran kemih. Kotrimoksazol merupakan kombinasi dari dua obat yaitu trimetoprim dan sulfametoksazol (Sari, *et al.*, 2015). Trimetoprim memiliki spektrum antibakteri yang sama dengan sulfametoksazol, meskipun daya antibakterinya 20-100 kali lebih kuat daripada sulfametoksazol. Beberapa mikroba peka terhadap kombinasi ini, seperti *Str. Pneumoniae*, *C. diphteriae*, *S. aureus*, dan *E. coli* (FKUI, 2007). Menurut Yenny (2007) obat pilihan utama antimikroba untuk mengobati diare yang disebabkan *enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) adalah doksisisiklin. Resistensi yang meningkat dari ETEC terhadap antimikroba menyebabkan kotrimoksazol dan fluorokuinolon digunakan untuk mengatasi infeksi ini.

2.3.1 Farmakodinamik Kotrimoksazol

Aktivitas antibakteri kotrimoksazol berdasarkan atas dua mekanisme kerja, yaitu dari mekanisme kerja sulfametoksazol, yang merupakan salah satu jenis dari golongan sulfonamid, dan dari mekanisme kerja trimetoprim. Sulfonamid menghambat masuknya molekul PABA, yang dibutuhkan kuman untuk membentuk asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi pembentukan basa purin (adenin, guanin, dan timidin) dan beberapa asam amino (metionin, glisin). Sel-sel mamalia menggunakan asam folat yang terdapat dalam makanan dan tidak mensintesis senyawa tersebut. Trimetoprim penting karena menghambat enzim yang juga ada di sel mamalia yaitu dihidrofolat reduktase mikroba secara selektif (FK UI, 2007). Kotrimoksazol bekerja membunuh *E.coli* dengan dua mekanisme yaitu:

- a. Sulfamethoxazole menjadi inhibitor kompetitif dari *dihydropteroate synthetase* yang berfungsi untuk merubah *p-aminobenzoate* menjadi

dihydropteroic acid, prekursor dari asam folat. Sehingga asam folat bakteri tidak dapat terbentuk.

- b. Trimethoprim menjadi inhibitor kompetitif dari *dihydrofolate reductase*, enzim yang mereduksi asam *dihydrofolat* menjadi *tetrahydrofolat acid*. Trimethoprim melekat pada enzim *dihydrofolate reductase* sehingga enzim tersebut tidak dapat bekerja.

Melalui dua mekanisme tersebut, kotrimoksazol mampu menghambat sintesis thymine dari bakteri *E.coli* sehingga tidak terbentuk DNA baru yang akhirnya membunuh bakteri tersebut karena tidak terbentuk asam amino baru (Cockerril, 1991).

2.3.2 Farmakokinetik Kotrimoksazol

Pada penggunaan oral, trimetoprim dan sulfametoksazol dengan cepat dan hampir semuanya akan diabsorpsi di saluran cerna. Kadar puncak plasma terjadi setelah 1-4 jam setelah waktu konsumsi. Kedua antibakteri ini bersifat lipofilik sehingga konsentrasi obat pada jaringan terutama pada paru dan ginjal lebih tinggi daripada plasma.

Trimetoprim dan sulfametoksazol terkandung dalam darah dalam beberapa bentuk yaitu tidak terikat protein atau bebas, berikatan dengan protein, dalam bentuk metaboliknya serta dalam bentuk terkonjugasi. Hampir 44% trimetoprim dan 70% sulfametoksazol berikatan pada plasma. Ikatan protein terhadap sulfametoksazol secara signifikan akan mengurangi ikatan protein terhadap trimetoprim, namun tidak sebaliknya. Karena sifatnya yang lipofilik, trimetoprim mempunyai volume distribusi yang lebih besar daripada sulfametoksazol. Volume distribusi trimetoprim hampir sembilan kali lebih besar daripada sulfametoksazol. Kedua antibakteri ini akan terdistribusi di sputum, cairan vagina sedangkan trimetoprim akan terdistribusi di bronkus, cairan plasenta dan ASI.

Sulfametoksazol akan dimetabolisme pada tubuh manusia menjadi lima metabolik aktif antara lain: N4-asetil, N4-hidroksi, 5-metilhidroksi, N45-metilhidroksi-sulfametoksazol dan konjugasi N-glukoronik. Pembentukan dari metabolik N4-hidroksi ini dimediasi oleh enzim CYP2C9. Secara *in vitro*,

trimetoprim akan dimetabolisme menjadi sebelas metabolik aktif. Lima di antaranya adalah adduksi glutation dan enam lainnya adalah metabolik oksidasi yaitu metabolik mayor, 1-oksida, 3-oksida, derivat 3-hidroksi dan derivat 4-hidroksi. Bentuk bebas dari sulfametoksazol dan trimetoprim inilah yang menimbulkan efek terapeutik. Metabolit trimetoprim juga ditemukan pada urin. Kira-kira 65% sulfametoksazol terikat pada protein plasma.

Nilai *half life* obat ini pada fungsi ginjal yang normal adalah 8.3-31 jam dengan rata rata 14.5 jam. Jika fungsi ginjal menurun kurang dari 10ml/menit waktu ini akan meningkat menjadi 1.5-3 kali. Oleh karena itu pada pasien usia tua atau pasien muda harus dilakukan penyesuaian dosis.

Ekskresi trimetoprim dan sulfametoksazol ini adalah melalui ginjal melalui mekanisme filtrasi glomerulus dan sekresi tubulus. Sekitar 60% trimetoprim dan 25-50% sulfametoksazol diekskresi melalui urin dalam 24 jam setelah pemberian Trimetoprim juga akan diekskresikan melalui ASI (FK UI, 2007; FDA, 2013).

2.3.3 Efek Samping Kotrimoksazol

Trimetoprim menyebabkan efek samping yang dapat diperkirakan karena efek antifolatnya, seperti anemia megaloblastik, leukopenia, dan granulositopenia. Kombinasi sulfametoksazol-trimetoprim dapat menyebabkan efek samping yang berkaitan dengan sulfonamid. Mual, muntah, demam, vaskulitis, kerusakan ginjal, dan gangguan susunan saraf pusat juga kadang terjadi (Katzung, 2001).

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan pengujian ini adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz *et al.*, 2001). Pengujian ini dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi.

2.4.1 Metode Difusi

Pada metode ini yang diamati ialah diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Diameter tersebut diukur sebagai kekuatan inhibisi suatu zat melawan bakteri yang diuji (Brooks *et al.*, 2008). Pada metode ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

a. Cara Cakram (tes Kirby Bauer)

Cara ini menggunakan cakram kertas yang berisi agen antibakteri. Kemudian cakram diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam dalam suhu 37°C agar cakram kertas dapat berdifusi pada media agar. Lalu diamati zona hambat yang terlihat sebagai area jernih dengan mengukur besarnya diameter daya hambat yang terbentuk di sekitar cakram kertas antibiotik tersebut. Semakin besar diameter daerah jernih maka semakin tinggi sensitifitasnya (Pelczar dan Chan, 2007).

b. Cara Sumuran (Cup-plate technique)

Cara ini serupa dengan cara cakram, dimana dibuat sumur atau lubang pada media agar yang sudah ditanami bakteri dan diberi agen antibiotik yang akan diuji pada sumur tersebut. Setelah itu, media agar diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Daerah jernih disekitar sumuran diukur sebagai diameter zona hambatnya (Pratiwi, 2008).

c. Cara Parit (Ditch-plate technique)

Pada cara ini, dibuat parit dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur yang setelah itu diisi oleh agen antibiotik. Setelah diisi oleh agen antibiotik, bakteri uji digoreskan di atasnya. Lalu media agar diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan kemudian diamati zona hambatnya (Prayoga, 2013).

d. Cara E-test

Cara ini digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu zat untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pada cara ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antibiotik dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami bakteri sebelumnya (Pratiwi, 2008).

2.4.2 Metode Dilusi

Pada metode ini digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari antibiotik yang diujikan. Metode ini dilakukan dengan cara mencampurkan zat antibakteri dan media agar, yang diinokulasikan dengan bakteri yang diuji. Tabung reaksi akan diisi media cair dan beberapa sel bakteri yang akan diuji, lalu dilakukan pengenceran secara serial dengan konsentrasi tertentu, selanjutnya diisi dengan antibiotik yang akan diujikan, kemudian seri tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diamati kekeruhan yang terjadi pada serial tabung tersebut. Hasil pengamatannya berupa tumbuh atau tidaknya bakteri pada media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji (Prayoga, 2013; Pratiwi, 2008). Pada metode ini dilakukan dengan dua cara, yaitu:

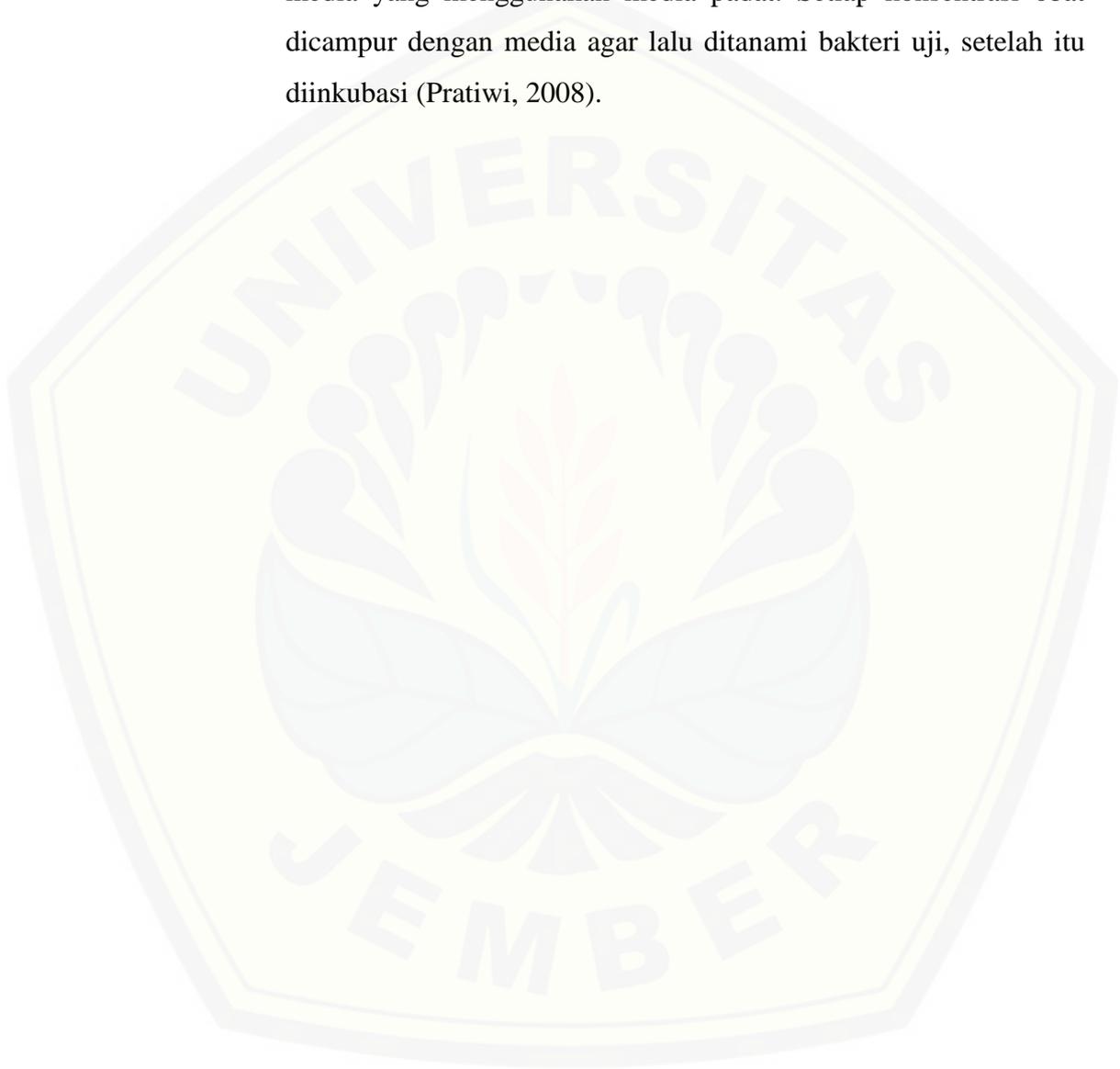
a. Metode Dilusi Cair (Broth Dilution Test)

Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibiotik pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji lalu diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibiotik dengan kadar terkecil yaitu dengan keadaan paling jernih ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM). Larutan KHM tersebut dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibiotik, dan

diinkubasi selama 18 – 24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Prayoga, 2013).

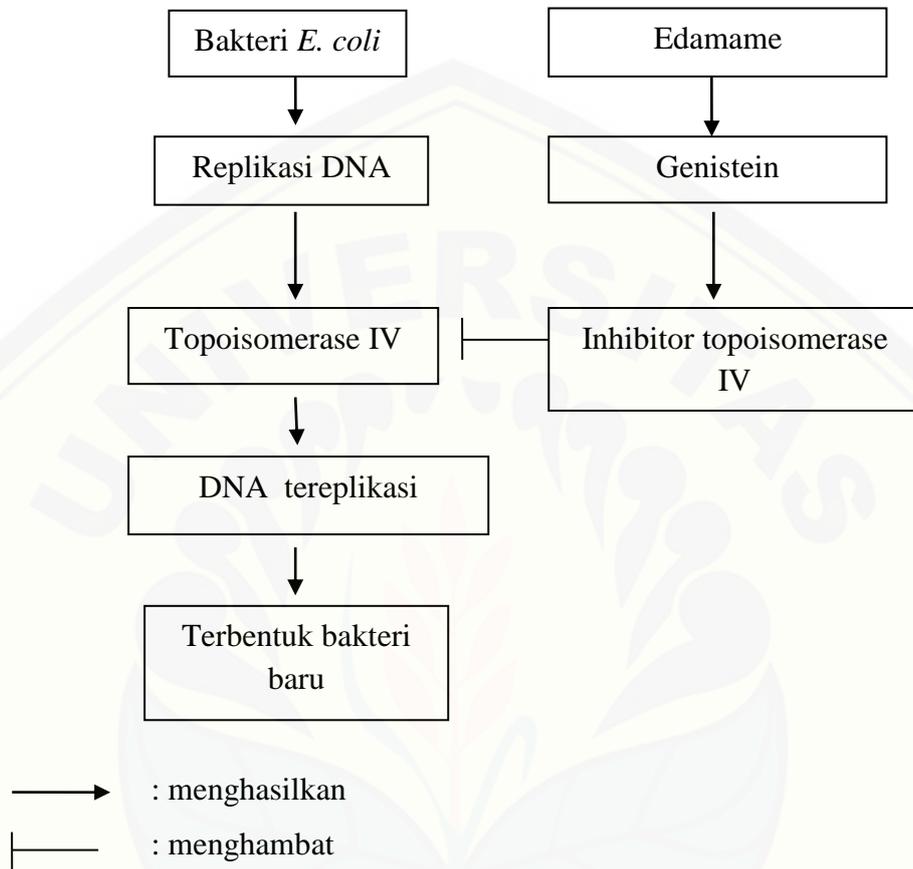
b. Metode Dilusi Padat (Solid Dilution Test)

Metode ini mirip dengan metode dilusi cair, hanya berbeda pada media yang menggunakan media padat. Setiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar lalu ditanami bakteri uji, setelah itu diinkubasi (Pratiwi, 2008).



2.5 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep dari penelitian ini adalah:



Gambar 2.2 Skema kerangka konsep

Bakteri *E. coli* melakukan replikasi DNA. Dalam replikasi DNA, untuk memperbaiki DNA yang kusut maka diperlukan enzim Topoisomerase IV sehingga DNA yang kusut dapat melepaskan diri dan dapat tereplikasi. Setelah terjadi replikasi DNA maka akan terbentuk Bakteri baru yang identik dengan sel induk.

Edamame kaya akan kandungan genistein sebagai isovlafon yang mencegah enzim Topoisomerase IV untuk bekerja. Sehingga DNA yang menumpuk tidak dapat terpisah. Karena tidak terpisah maka DNA akan mengalami degradasi dan pada akhirnya menyebabkan kematian pada sel bakteri.

2.7 Hipotesis

H0 : Ekstrak etanol biji edamame tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro.

H1 : Ekstrak etanol biji edamame dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro.



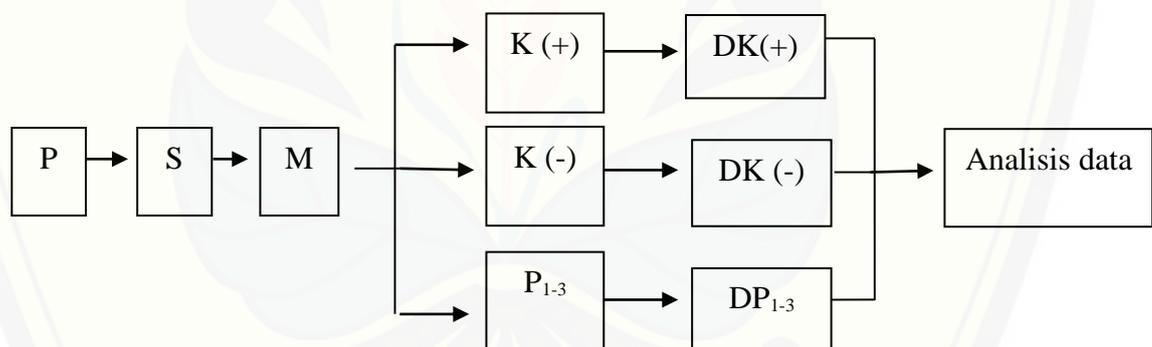
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental design*. Penelitian ini menggunakan rancangan *post test only control group design* yaitu dalam penelitian ini terdapat lima kelompok yang dipilih secara random. Salah satu kelompok diberi perlakuan yaitu dengan pemberian ekstrak etanol biji edamame yang disebut kelompok eksperimen dan kelompok lainnya tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol (Purwanto dan Sulistyastuti, 2011). Dalam penelitian ini dilakukan tahap pengujian sumuran untuk menentukan diameter zona hambat.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian dapat dilihat dari skema di bawah.



Keterangan:

P : populasi biakan E. coli

S : sampel biakan E. coli

M : media MHA

K(-) : kelompok kontrol negatif dengan pemberian DMSO 10%

K(+): kelompok kontrol positif dengan pemberian kotrimoksazol 0,025 mg/ml

P1-3 : kelompok perlakuan ekstrak etanol ekstrak edamame dengan konsentrasi 100 mg/ml, 200 mg/ml, dan 400 mg/ml (P1, P2, P3).

DK(+): data perlakuan K(+): dengan kotrimoksazol 0,025 mg/ml

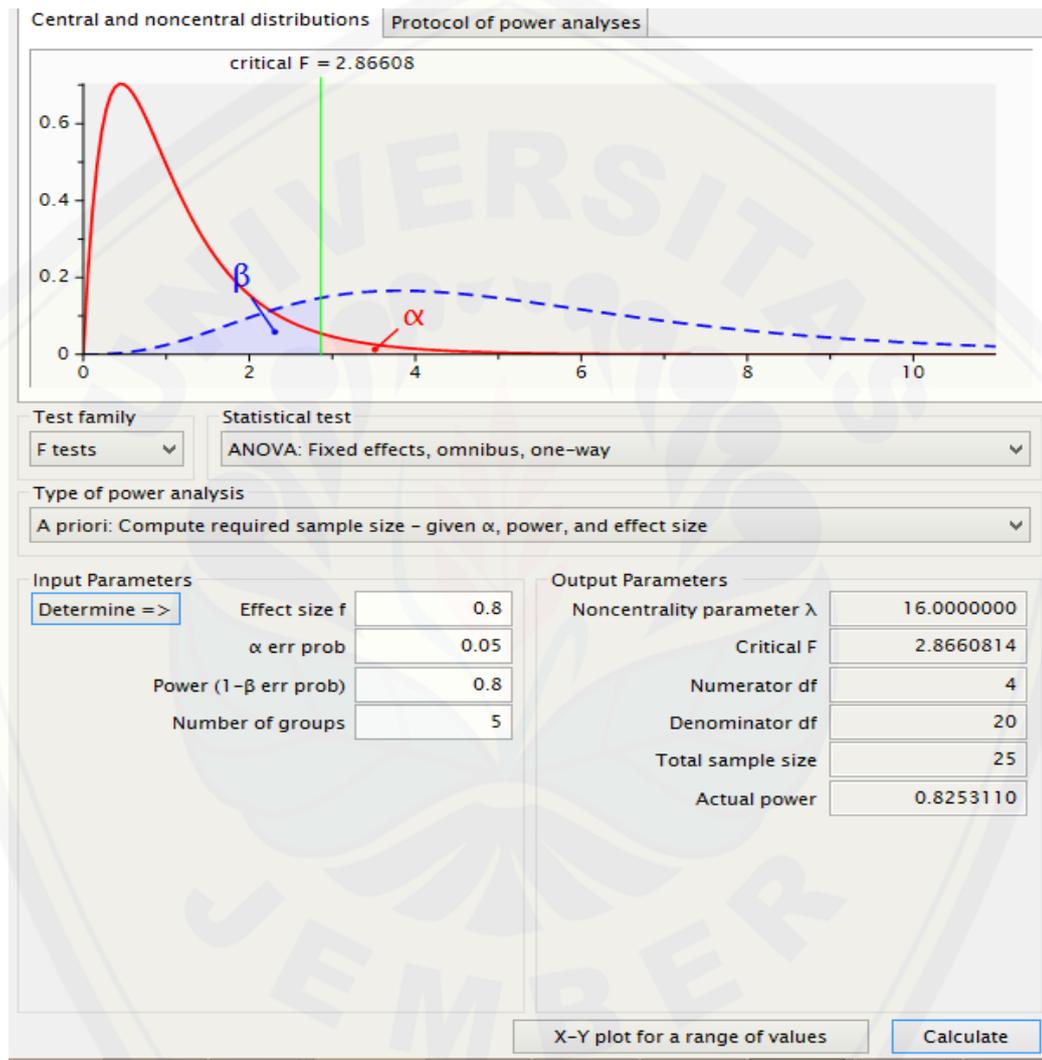
DP1-3 : data perlakuan ekstrak etanol ekstrak edamame dengan konsentrasi 100 mg/ml, 200 mg/ml, dan 400 mg/ml;

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah koloni bakteri *E. coli* dari stok kultur milik Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland (10^8 CFU/ml).

Jumlah elemen sampel yang dilakukan dihitung berdasarkan G power:



Gambar 3.2 Perhitungan jumlah sampel berdasar perangkat lunak G-power 3.0.10

Dari 25 *total sample size*, dibagi dalam 5 kelompok menghasilkan jumlah elemen sampel sebanyak 5 buah.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

3.4.1 Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol biji edamame dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Tempat uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji edamame dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 – Januari 2019 selama 10 hari.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol biji edamame yakni konsentrasi 100 mg/ml, 200 mg/ml, dan 400 mg/ml

3.5.2 Variabel Terikat

Diameter zona hambat antibakteri ekstrak etanol biji edamame terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

3.5.3 Variabel Terkendali

- a. Pembuatan biakan bakteri, pembuatan ekstrak etanol biji edamame, media MHA, autoklaf, inkubator, suspensi obat, DMSO 10% dan aquades steril.
- b. Suhu inkubasi bakteri 37°C dan lama inkubasi 24 jam.
- c. Metode pengamatan uji KHM.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Ekstrak etanol biji edamame	Biji edamame yang sudah dicuci dan dikeringkan lalu diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan etanol 96% kemudian dievaporasi. Konsentrasi yang digunakan adalah 100 mg/ml; 200 mg/ml; dan 400 mg/ml		Rasio
2.	Kotrimoksazol	Obat Kotrimoksazol dalam sediaan <i>disk</i> yang mengandung dosis sebesar 25 μ g yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.		Rasio
3.	<i>Escherichia coli</i>	Bakteri yang digunakan merupakan biakan bakteri <i>E.coli</i> yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember	Jumlah koloni bakteri <i>E.coli</i>	Rasio
4.	Uji antibakteri aktivitas	Uji sensitivitas suatu antibakteri dalam melawan bakteri patogen dengan metode difusi sumuran (Brooks et al., 2007). Sifat antibakteri ditunjukkan oleh zona bening sebagai bentuk penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri uji yang terbentuk di sekitar sumuran dan diukur dengan menggunakan jangka sorong.	Diameter zona hambat	Rasio

3.7 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sterilisator, kertas saring, beker glass, centrifuge, vial, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vortex, autoklaf, cawan petri, timbangan, ose bulat, lampu bunsen, inkubator, rotary evaporator, anaerobic jar, corong Buchner, besi pelubang media, mikropipet, tabung erlenmeyer, jangka sorong (Ramadhan *et al.*, 2015). Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah MHA, aquades steril, DMSO, suspensi *E. coli*, ekstrak etanol biji edamame, spirtus.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Persiapan Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan dipakai dalam penelitian ini disterilkan dalam sterilisator panas kering selama 15 menit pada suhu 115°C terlebih dahulu. Kemudian bahan media disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121°C (Suswati dan Mufida, 2009).

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Edamame

Sampel biji edamame yang diambil dari PT. Mitra Tani Dua Tujuh Jember dicuci menggunakan air mengalir. Selanjutnya diangin-anginkan hingga kadar air berkurang. Setelah itu dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dengan metode remaserasi selama 3 hari, kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang terkumpul kemudian diuapkan pada rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak etanol biji edamame.

3.8.3 Pembuatan Larutan Mc Farland

Standar Mc Farland dibuat dengan cara mencampur 9,95 ml asam sulfat (H_2SO_4) 1% dengan 0,05 ml barium klorida ($BaCl_2$) 1%. Kemudian tabung disegel dan digunakan untuk perbandingan suspensi bakteri dengan standar larutan baku Mc Farland (Suswati dan Mufida, 2011).

3.8.4 Pembuatan Media Mueller Hinton Agar

Serbuk MHA ditimbang sebanyak 3,4 g kemudian dimasukkan dalam tabung erlenmeyer. Lalu ditambahkan 1000 ml aquades kedalam tabung, dicampur dan diaduk merata kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut. Larutan dimasukan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Setelah proses autoklaf, 20 ml larutan dalam tabung erlenmeyer dituangkan kedalam cawan petri steril dengan cara aseptik lalu dimasukan kedalam inkubator dengan suhu 37°C (Suswati dan Mufida, 2009).

3.8.5 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Edamame

Pembuatan konsentrasi ini didasarkan atas penelitian sebelumnya. Dari penelitian sebelumnya, didapatkan adanya aktivitas antibakteri pada konsentrasi 100 mg/ml (Hosseini Chalestori *et al.*, 2017). Hal ini dijadikan dasar peneliti melakukan pengenceran bertingkat dengan kelipatannya yaitu 100 mg/ml, 200 mg/ml, dan 400 mg/ml. Konsentrasi ekstrak etanol biji edamame didapatkan dengan cara melarutkan ekstrak etanol biji edamame dengan DMSO 10%.

Ekstrak etanol biji edamame dilarutkan dengan pelarut DMSO 10% sesuai konsentrasi yang digunakan pada kelompok perlakuan. Untuk konsentrasi ekstrak etanol biji edamame 400 mg/ml didapatkan dengan cara melarutkan 800 mg ekstrak etanol biji edamame dengan pelarut 2 ml DMSO 10% kemudian dihomogenkan selama 60 detik kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan kelipatan setengahnya hingga 100 mg/ml.

3.8.6 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dimulai dengan cara mengisi aquades sebanyak 4 ml pada gelas sampel. Kemudian mengambil koloni bakteri *E. coli* menggunakan ose dari stok kultur bakteri *E. coli*. Selanjutnya dihomogenkan dan dibandingkan dengan Mc Farland hingga mendapatkan kekeruhan yang sama agar jumlah koloni bakteri secara kualitatif mencapai 10^8 CFU/ml (Suswati dan Mufida, 2009).

3.8.7 Pembuatan Kontrol Negatif (K-)

Dalam penelitian ini kontrol negatif menggunakan DMSO 10% yang dibuat dengan cara mencampur 1 ml DMSO murni dan 9 ml aquades kemudian dihomogenkan. Sebanyak 100 µl DMSO 10% diteteskan pada sumuran dengan menggunakan mikropipet 100 µl (Assidqi *et al.*, 2012).

3.8.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Peneliti menggunakan cara sumuran dalam melakukan uji kepekaan bakteri. Suspensi bakteri *E. coli* 10⁸ CFU/ml diratakan pada MHA, kemudian dibuat sumuran dengan tabung logam pencetak sumuran dengan garis tengah 7,6 mm. Ekstrak etanol biji edamame diteteskan ke dalam sumuran dengan konsentrasi 100 mg/ml, 200 mg/ml, dan 400 mg/ml kemudian mengisi sumuran dengan perlakuan K+. Selanjutnya diletakkan pada anaerobic jar lalu diinkubasi pada suhu 37^oC selama 24 jam. Kemudian mengukur zona hambat di sekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong (Brooks *et al.*, 2007).

3.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara komputerisasi dengan menggunakan perangkat lunak pengolah data. Jika didapat data terdistribusi normal, maka untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol biji edamame dengan konsentrasi bertingkat terhadap bakteri *E. coli* digunakan uji komparatif *One Way Anova* dilanjutkan uji *Post Hoc Multiple Comparison* metode *Tukey*. Jika tidak terdistribusi normal, maka dilakukan uji komparatif *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Multiple Comparison* metode *Mann-Whitney* (Dahlan, 2015).

3.10 Alur Penelitian

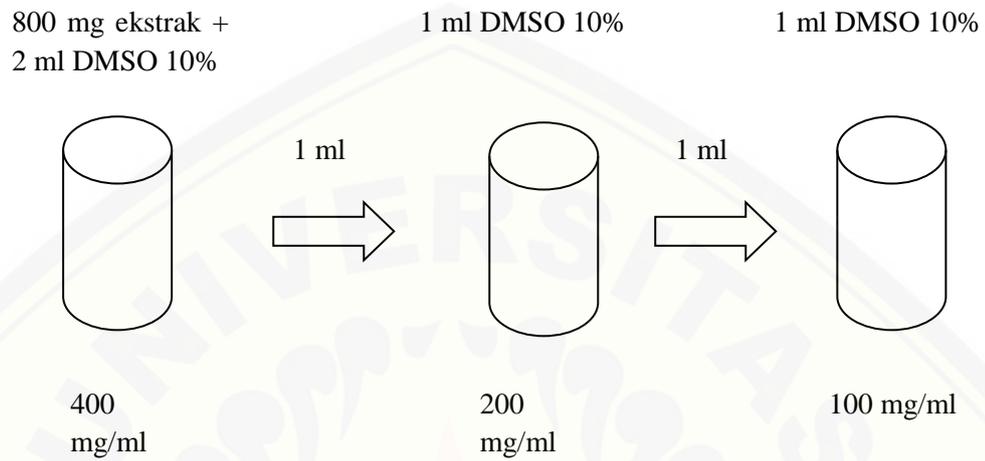
3.10.1 Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Edamame



Gambar 3.3 Skema pembuatan ekstrak etanol biji edamame

3.10.2 Alur Pengenceran Ekstrak Etanol Biji Edamame

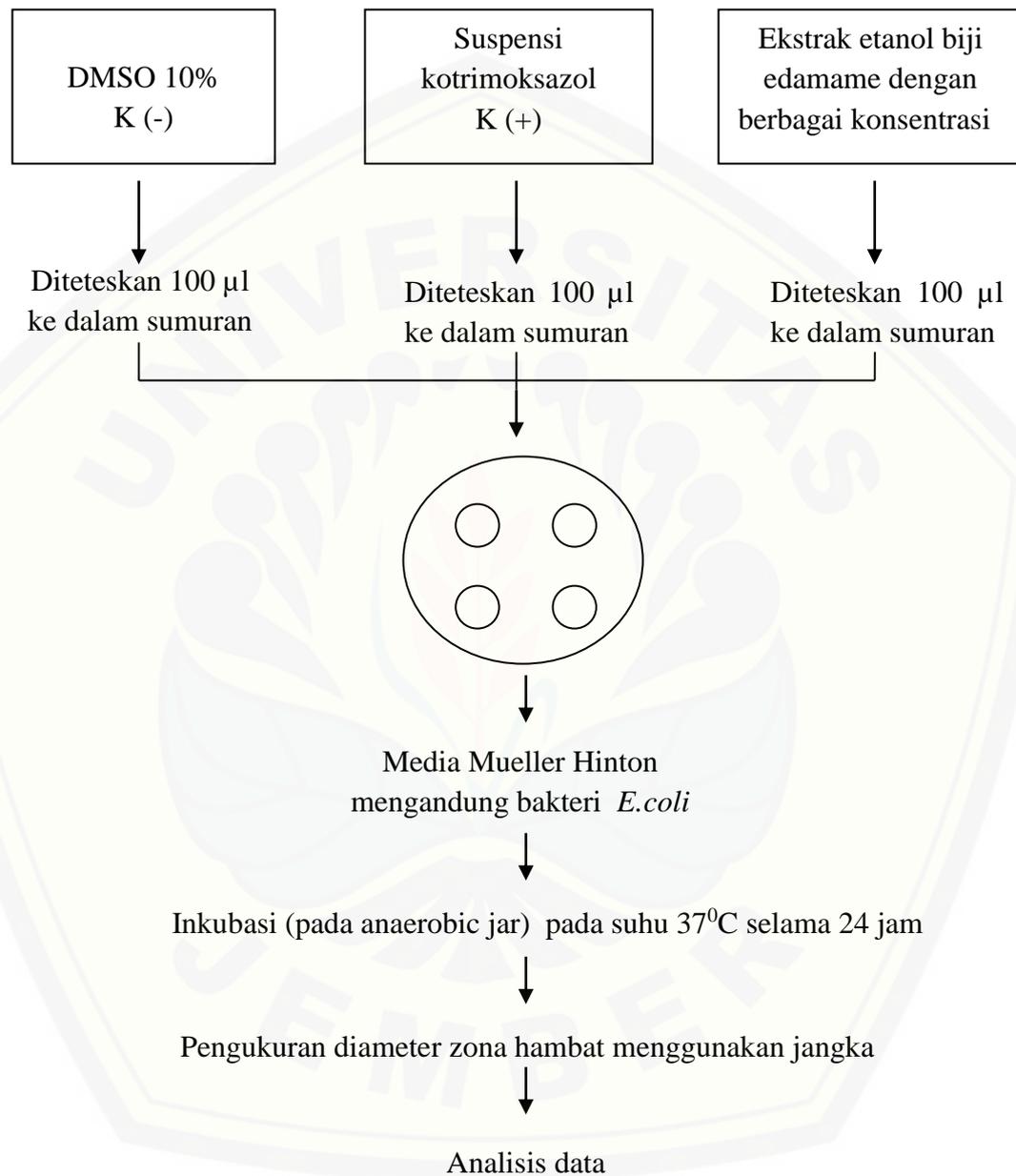
Alur pengenceran ekstrak dilakukan secara bertingkat yang digambarkan dalam skema berikut:



Gambar 3.4 Skema pengenceran ekstrak etanol biji edamame

3.10.3 Alur Uji Aktivitas Antibakteri

Alur pengujian aktivitas antibakteri ekstrak yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.5 Skema uji aktivitas antibakteri

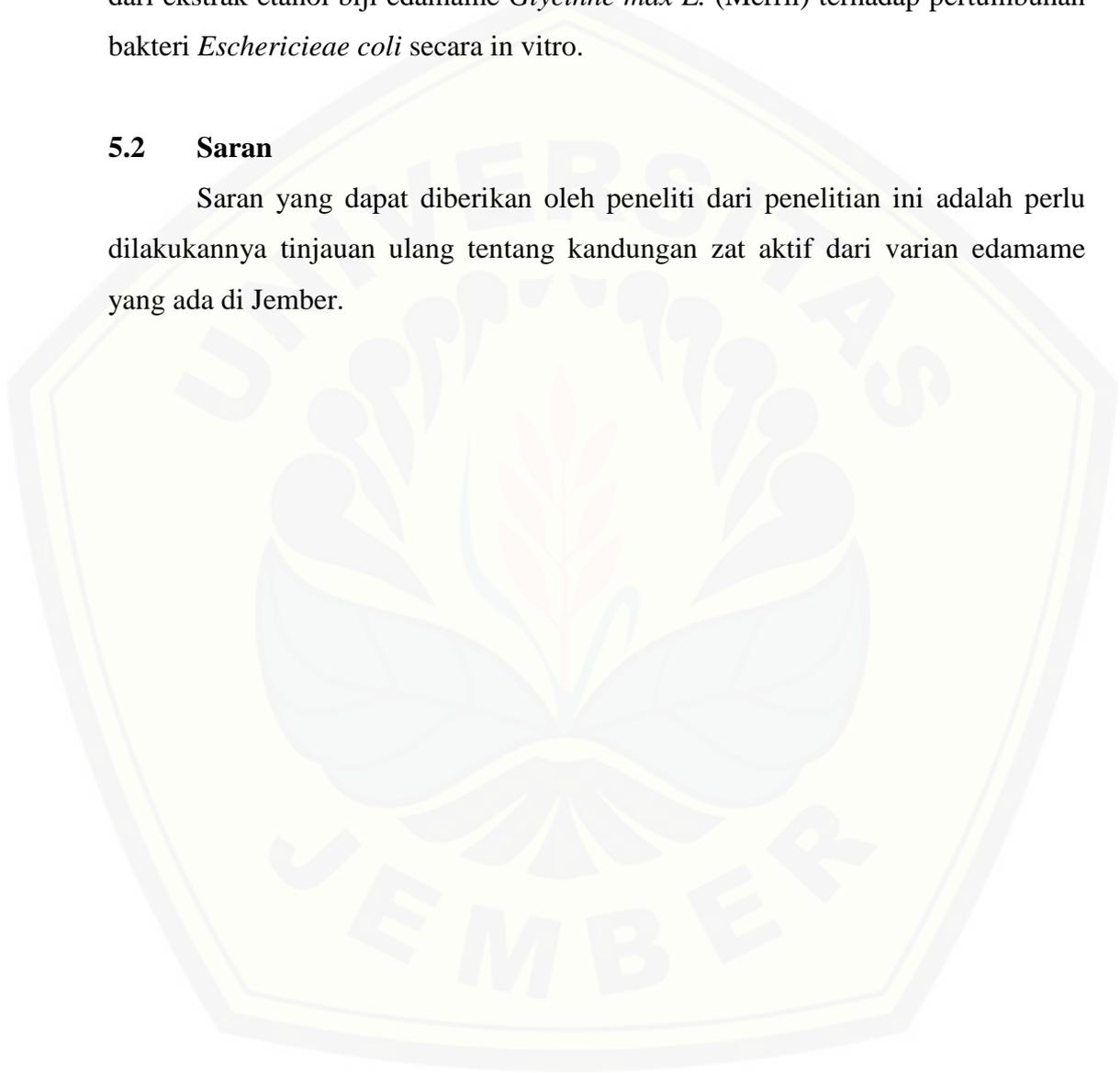
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah tidak terdapat efek antibakteri dari ekstrak etanol biji edamame *Glycinne max L.* (Merril) terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericieae coli* secara in vitro.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini adalah perlu dilakukannya tinjauan ulang tentang kandungan zat aktif dari varian edamame yang ada di Jember.



DAFTAR PUSTAKA

- Ariyantini, M. D., M. Fauzi., dan J. Jayus. 2017. Inaktivasi Enzim Protease Pada Puree Edamame (Glycine Max) Menggunakan Teknik Pulsed Electric Field (Pef). *Jurnal Agroteknologi* 11(2).
- Asadi. 2009. Karakteristik plasma nutfah untuk perbaikan varietas kedelai sayur (edamame). *Buletin Plasma Nutfah* 15 (2): 59-69.
- Assidqi, K., Wahyu T., dan Setyawati S. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai Antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* secara In Vitro. *Journal of Marine and Coastal Science*. 1(2)
- Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Kedelai Sayur Edamame. <http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/berita/kedelai-sayur-edamame/> [Diakses pada tanggal 23 Maret 2019]
- Brooks, G.F. 2000. *Mikrobiologi kedokteran* Ed.1. Jakarta: Salemba Medika.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Enterotoxigenic E.coli (ETEC). <http://www.cdc.gov/ecoli/etec.html> [Diakses pada tanggal 1 januari 2019]
- Cockerill, F. R., & Edson, R. S. (1991). *Trimethoprim-Sulfamethoxazole*. *Mayo Clinic Proceedings*, 66(12), 1260–1269. doi:10.1016/s0025-6196(12)62478-1
- Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, dan Finlay BB. 2013. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 26 (4): 822–80. doi:10.1128/CMR.00022-13
- Dahlan M. S. 2013. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat, Dilengkapi Aplikasi dengan Menggunakan SPSS*. Edisi 5. Jakarta: Salemba Medika.
- Drlica K, Zhao X. 1997. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev*. 61(3):377-92.
- Erwan Agus Purwanto dan Dyah Sulistyastuti. 2011. *Metode Penelitian Kuantitatif Untuk Administrasi Publik Dan Masalah-masalah Sosial*. Yogyakarta : Gava Media. hlm. 89.
- Fachruddin L. 2000. *Budidaya Kacang Kacangan*. Kanisius. Yogyakarta.
- FDA. 2013. *BACTRIM™ sulfamethoxazole and trimethoprim DS (double strength) tablets and tablets USP*. Food and Drug Administration.
- Firmansyah dan Dhuha. 2014. Kedelai Jember Tembus Pasar Internasional Pusdatin Sekretariat Kabinet Republik Indonesia. <http://setkab.go.id/kedelai-jember-tembus-pasar-internasional/> . [Diakses pada 11 November 2018]

- Fukutake, M., Takahashi, M., Ishida, K., Kawamura, H., Sugimura, T., & Wakabayashi, K. 1996. *Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. Food and Chemical Toxicology*, 34(5), 457–461.
- Haryati, S.D, S. Darmawati, W. Wilson. 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. *Implementasi Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Untuk Peningkatan Kekayaan Intelektual*. 30 September 2017. Universitas Muhammadiyah Semarang
- Hong, H., Landauer, M. R., Foriska, M. A., & Ledney, G. D. 2006. Antibacterial activity of the soy isoflavone genistein. *Journal of Basic Microbiology*. 46(4), 329–335. doi:10.1002/jobm.200510073
- Hosseini Chaleshtori, S. A., Ataie Kachoe, M., & Hashemi Jazi, S. M. (2017). Antibacterial effects of the methanolic extract of *Glycine Max* (Soybean). *Microbiology Research*, 8(2). doi:10.4081/mr.2017.7319
- Kim, K. S. 2012. *Current concepts on the pathogenesis of Escherichia coli meningitis. Current Opinion in Infectious Diseases*, 25(3), 273–278.
- Irwan A.W. 2006. *Budidaya Tanaman Kedelai (Glycine max (L.) Merrill)*. Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jatinangor. Bandung.
- Johnson, D., Wang, S., dan Suzuki, A. 1999. *Edamame Vegetable Soybean for Colorado*. In: *Janick, J.* (eds.). *Perspective on New Crops and New Uses*, pp. 379 –388. ASHS Press, Alexandria.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed.23 Jakarta; EGC.2007. hlm 92-95 dan 251-260
- Katzung, Bertram G. 2001. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. edisi pertama. Salemba Medika. Jakarta.
- Kurniawan, B.J, M. A. Shodikin, B. Hermansyah. 2018. Efek Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosasinensis L.*) dan Siprofloksasin terhadap *Shigella dysenteriae* secara In Vitro. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. Vol. 4 (2)
- Kuntaman, Eddy Mudihardi, Setio Harsono, Kartuti Debora, Ni Made Mertaniasih. *Aspek Mikrobiologi dalam Infeksi Saluran Kemih. Penyakit Infeksi di Indonesia Solusi Kini dan Mendatang*. Surabaya: Airlangga University Press; 2007. hlm 166-70.
- Mariana, Y. dan R. Setiabudy. 2007. Sulfonamid, Kotrimoksazol dan Antiseptik Saluran Kemih. *Farmakologi dan terapi*. 5th ed. Jakarta: Balai penerbit FK UI.
- Mebrahtu, T., A. Mohamed, C. Y. Wang, T. Andrehban. 2004. Analysis of isoflavones contains in vegetable soybean. *Plant Food for Human Nutrition*. 59: 55-61.

- Mueller, J.H and J. Hinton. 1941. A Protein-Free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus. *Exp Biol Med (Maywood)*. 48:330
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. VII (2)
- Noviana, H. 2004. Pola kepekaan antibiotika *Escherichia coli* yang diisolasi dari berbagai spesimen klinis. *Jurnal Kedokteran Trisakti*. 23(4)
- Nygren BL, Schilling KA, Blanton EM, Silk BJ, Cole DJ, Mintz ED. 2012. Foodborne outbreaks of shigellosis in the USA, 1998-2008. *Epidemiology and Infection*. 141(2):hal. 233–241
- Pambudi, Singgih. 2013. *Budidaya dan Khasiat Kedelai Edamame Camilan Sehat dan Lezat Multi Manfaat*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Baru.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga. Hlm.22- 42,154-67 dan 188-89
- Prayoga E. 2013. Perbandingan efek ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Preedy, V.R. 2013. *B Vitamins and Folate : Chemistry, Analysis, Function and Effects*. Cambridge : The Royal Society of Chemistry.
- Prestiandari, E., S. Hermawati, L. R. Dewi. 2018. Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum* Linn) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (The Inhibition of Red Pomegranate Fruit Extract (*Punica granatum* Linn) on The Growth of *Staphylococcus aureus*). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, vol. 6 (no. 1),
- Rackis, J.J. 1978. Biochemical Changes in Soybeans: Maturation, Post-Harvest Storage and Processing, and Germination. In: Hultin, H.O. and Milner, M. (eds.). *Post-Harvest Biology and Technology. Food and Nutrition, Westport*.
- Rendon, M. A., Saldana, Z., Erdem, A. L., Monteiro-Neto, V., Vazquez, A., Kaper, J. B., Giron, J. A. 2007. Commensal and pathogenic *Escherichia coli* use a common pilus adherence factor for epithelial cell colonization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104 (25): 10637–10642. doi:10.1073/pnas.0704104104
- Rukmana, R dan Yuyun, Yuniarsih. 1996. *Kedelai Budidaya dan Pasca Panen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Samsu, H. S. 2001. *Membangun Agroindustri Bernuansa Ekspor: Edamame (vegetable soybean)*. Jember: Graha Ilmu dan Florentina.
- Sari, P. S., Erly, D. Arisanty. 2015. Perbandingan Efektivitas Daya Hambat Kotrimoksazol Generik dan Paten terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

- sebagai Penyebab Infeksi Saluran Kemih secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 3(1).
- Setiawan, T., Ambarsari, L., Sumaryada, T. I. 2016. Studi In Silico Converse Region Etoposite Binding Domain Pada Isozim Human Dna Topoisomerase II. *CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. [S.l.], v. 4, n. 1, p. 61 - 70.
- Shanmugasundaram, S., S.T. Cheng, M.T. Huang and M.R. Yan. 1991. Varietas Improvement Of Vegetable Soybean In Taiwan. In Vegetable Soybean. *Research Needs For Production An Quality Improvement AVRDC*.
- Sharma, A. 2011. Antibacterial activity of ethanolic extracts of some arid zone plant. *International Journal of PharmTech Research*. Vol. 3, No.1, pp 283-286,
- Shurtleff, W. dan A. Aoyagi. 2009. History of Edamame, Green Vegetable Soybeans, And Vegetable-Type Soybeans (1275-2009): Extensively Annotated Bibliography And Sourcebook. *Lafayette: Soyinfo Center*.
- Siddiq, H. B. H. F., E. F. Prabawati. 2016. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji edamame (*Glycinne max (L.) Merril*) dengan metode DPPH.
- Suardana, I.W, dan I.B.N Swacita, 2009. *Higiene Makanan. Kajian Teori dan Prinsip Dasar*. Udayana University Press. ISBN 978-979-8286-76-6.
- Susanto, Sudrajat, & R. Ruga. (2012). Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarman Scientifie*, 11(12), 181–190.
- Suswati, E dan Mufida, D. C. 2009. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Fakultas Farmasi*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Todar, K. 2007. *Pathogenic E. coli. Online Textbook of Bacteriology*. University of Wisconsin–Madison Department of Bacteriology
- Verdrengh, M., Collins, L. V., Bergin, P. and Tarkowski, A., 2004. Phytoestrogen genistein as an anti-staphylococcal agent. *Microbes Infect.*, 6, 86–92.
- Waluyo L. 2012. *Mikrobiologi umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Widati, F. dan I. M. Hidayat. 2012. *Kedelai Sayur (Glycinne Max (l) Merril) sebagai Tanaman Pekarangan*. Bandung: Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- Yang, Z., K. Kulkarni, w. Zhu, M. Hu. 2012. Bioavailability and pharmacokinetics of genistein: mechanistic studies on its ADME. *Anticancer Agent Med chem*. 12(10): 1264-1280.
- Zeniusa, P. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau Terhadap *Escherichia Coli* Secara *In Vitro*. Skripsi. Bandar Lampung: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

