

**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL RIMPANG LENGKUAS
(*Alpinia galanga L. Willd*) SEBAGAI ANTIMIKROBA
TERHADAP BAKTERI *Salmonella Typhi* SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

Priscilla D.A Damaraasri

NIM : 0910710105

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2013

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT telah memberikan rahmat, hidayah dan kemudahan, sehingga penulisan tugas akhir ini dapat selesai. Sholawat dan salam penulis ucapkan kepada Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan bagi umat di dunia. Tugas akhir ini ditulis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam kepada :

1. Dr. dr. Karyono S. Mintaroem, Sp.PA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi penulis kesempatan menuntun ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H., M.Sc., SpParK. selaku Ketua Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. MSi sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan mulai dari proses awal pembuatan proposal, penelitian, hingga Tugas Akhir ini selesai.
4. Drg. Purwani Tirahiningrum, MPd. sebagai pembimbing kedua atas kesabaran, arahan, ilmu, dan masukan yang solutif terhadap penulis selama menyusun Tugas Akhir ini.
5. Dr. Dian Hasanah, M.Biomed, yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberi kritik yang membangun.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas bantuan dan kemudahan yang telah diberikan.

7. Yang tercinta dan tak tergantikan, super mama Ika Andikawati serta dua insinyurku papa Ir. Pompi Suwono dan kakak Pradipta Damara, ST yang telah memberikan dukungan dan doa yang tidak pernah berhenti dalam bentuk moral maupun materi sehingga tugas akhir ini berjalan lancar.
8. Teman-teman jurusan Pendidikan Dokter angkatan 2009 khususnya Pendidikan Dokter kelas A 2009 atas kekeluargaannya selama ini.
9. Sahabatku tersayang R. Azaria Rahmah, Novia Rusmayanti, Novita Muslimah, Sri Fajerin, Ardine Pratiwi, Cendy Prastiwi, Ratih Dewi, dan Noorma Lukitasari serta Diana Wardanita atas dukungannya selama proses pembuatan tugas akhir ini.
10. Segenap staf Laboratorium Mikrobiologi yang telah banyak memberikan informasi dan bantuan dalam proses penelitian tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan. Akhir kata, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi setiap pembaca.

Malang, Februari 2013

Penulis

ABSTRAK

Damaraasri, Priscilla. 2013. **Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L. Willd) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri *Salmonella* Typhi secara in Vitro**. Tugas akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. MSi. (2) drg. Purwani Tirahiningrum, M.Pd.

Salmonella Typhi adalah penyebab penyakit menular endemik, demam tifoid, yang merupakan masalah kesehatan karena dapat menimbulkan angka mortalitas. Beberapa tahun belakangan ini, *S. Typhi* telah dilaporkan adanya resistensi terhadap obat antimikroba sehingga menimbulkan masalah terapi yang sulit. Salah satu alternatif terapi adalah dengan bahan alami, yaitu rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L. Willd). Kandungan aktif rimpang lengkuas yang diduga bermanfaat sebagai antimikroba adalah flavonoid, tanin, dan polifenol. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. Typhi* secara in vitro. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan metode dilusi tabung. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. Typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 0% dengan empat kali pengulangan. Hasil uji statistik Kruskal Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas terhadap pertumbuhan *S. Typhi* ($p < 0,05$). Uji statistik Mann Whitney menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah koloni *S. Typhi* yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol rimpang lengkuas. Uji korelasi Spearman menunjukkan adanya hubungan yang erat antara konsentrasi ekstrak dengan pertumbuhan bakteri (Korelasi, $r = -0,989$; $p < 0,05$). Kesimpulan penelitian ini yaitu ekstrak etanol rimpang lengkuas terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. Typhi* secara in vitro dengan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) sebesar 5%.

Kata kunci : rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L. Willd), antimikroba, *Salmonella* Typhi.

ABSTRACT

Damaraasri, Priscilla. 2013. **Effectiveness of Ethanol Extract from Galanga Rhizome (*Alpinia galanga* L. Willd) as an Antimicrobial Against *Salmonella* Typhi in Vitro**. Final Assignment, Medical School of Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. MSi. (2) drg. PurwaniTirahiningrum, M.Pd.

Salmonella Typhi causes typhoid fever, an endemic infectious disease which becomes a health issue due to the mortality rate. In the recent years, *S. Typhi* has been reported to develop resistance to antimicrobials, which becomes a difficulty in therapy. One alternative therapy is by taking advantage of natural ingredients, one of which is galanga (*Alpinia galanga* L. Willd) rhizome. Galanga rhizome's active ingredients suspected beneficial as antimicrobials are flavonoid, tannin, and polyphenol. This research is to prove whether ethanol extract of galanga rhizome can prevent the growth of *S. Typhi* in vitro. This research is an laboratory experimental study with tube dilution method. Samples used are *S. Typhi* obtained from Microbiology Laboratorium of Medical School of Brawijaya University. Concentrations of extract used are 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, and 0% with repetition of four times. The result of Kruskal-Wallis statistic test showed significant differences of the change of concentrations of ethanol extract from galanga rhizome to the growth of *S. Typhi* ($p < 0.05$). The result of Mann-Whitney statistic test showed significant decrease of *S. Typhi* growth with the increased dose of ethanol extract from galanga rhizome. Spearman's correlation test showed close relation of extract concentration and bacterial growth (correlation, $r = -0.989$, $p < 0.05$). It is concluded that ethanol extract from galanga rhizome can prevent the growth of *S. Typhi* in vitro with minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of 5%.

Keywords: galanga (*Alpinia galanga* L. Willd) rhizome, antimicrobial, *Salmonella* Typhi

DAFTAR ISI



Judul	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Daftar isi.....	vii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 <i>Salmonella</i> Typhi	5
2.1.1 Klasifikasi <i>Salmonella</i> Typhi	5
2.1.2 Morfologi dan Fisiologi <i>Salmonella</i> Typhi	6
2.1.3 Struktur Antigen <i>Salmonella</i> Typhi	6
2.1.4. Patofisiologi.....	6
2.1.5. Manifestasi Klinis.....	7
2.1.6 Pengobatan.....	8
2.2 Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> L. Willd).....	10
2.2.1 Taksonomi Lengkuas.....	10
2.2.2 Karakteristik Lengkuas.....	10
2.2.3 Manfaat Lengkuas.....	12
2.2.4 Kandungan Aktif Antimikroba.....	13
2.2.4.1 Flavonoid.....	13
2.2.4.2 Tanin.....	13
2.2.4.3 Polifenol.....	14
2.2.5 Mekanisme Penghambatan Mikroorganisme oleh Antimikroba.....	15
2.2.6 Uji Aktivitas Antimikroba.....	16

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Skema Kerangka Konseptual.....	18
3.2 Hipotesis Penelitian	19



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian	20
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
4.3 Sampel Penelitian.....	20
4.4 Variabel Penelitian.....	22
4.5 Definisi Operasional.....	22
4.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	24
4.6.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak	24
4.6.1.1 Alat.....	24
4.6.1.2 Bahan.....	24
4.6.2 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan Gram Bakteri.....	24
4.6.3 Alat dan Bahan untuk Uji Dilusi Tabung.....	24
4.7 Rancangan Operasional Penelitian.....	25
4.7.1 Pembuatan Sediaan Ekstrak Lengkuas.....	25
4.7.2 Identifikasi Ulang Bakteri <i>Salmonella</i> Typhi.....	26
4.7.2.1 Pewarnaan Gram.....	26
4.7.2.2 Penanaman pada BSA.....	27
4.7.3 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan 10 ⁶ bakteri/mL.....	27
4.7.4 Uji Antimikroba.....	28
4.8 Analisis Data.....	32



BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian	33
5.1.1 Ekstrak Lengkuas.....	33
5.1.2 Hasil Identifikasi <i>Salmonella</i> Typhi.....	33
5.1.3 Hasil Pengamatan Kadar Hambat Minimum.....	35
5.1.4 Hasil Pengukuran Kadar Bunuh Minimum	36
5.2 Analisis Data.....	41

BAB 6 PEMBAHASAN 43

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan	47
7.2 Saran	47

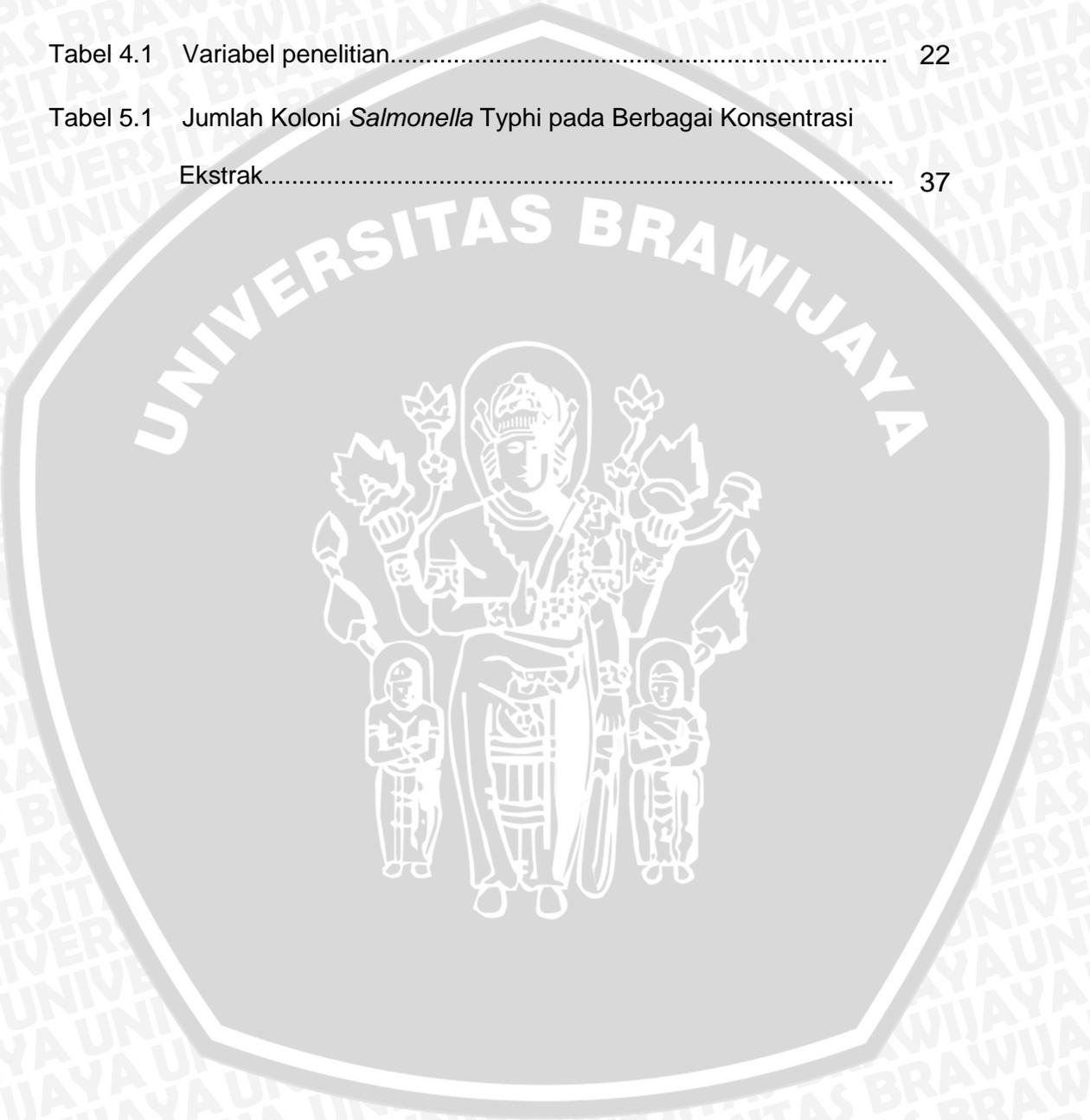
DAFTAR PUSTAKA 48

LAMPIRAN..... 51



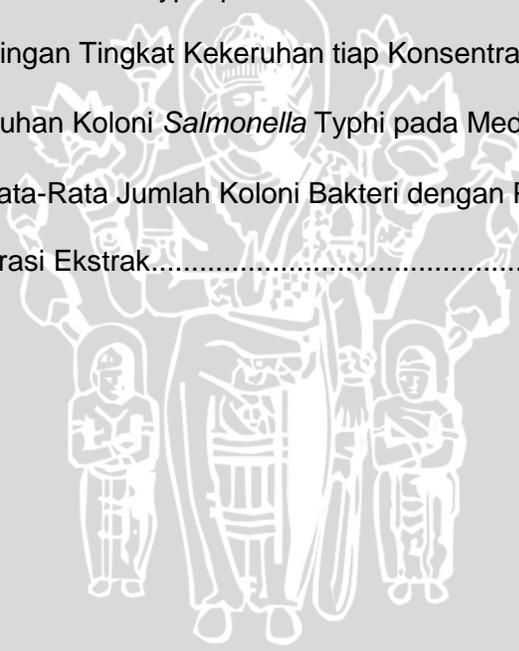
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Variabel penelitian.....	22
Tabel 5.1	Jumlah Koloni <i>Salmonella</i> Typhi pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak.....	37



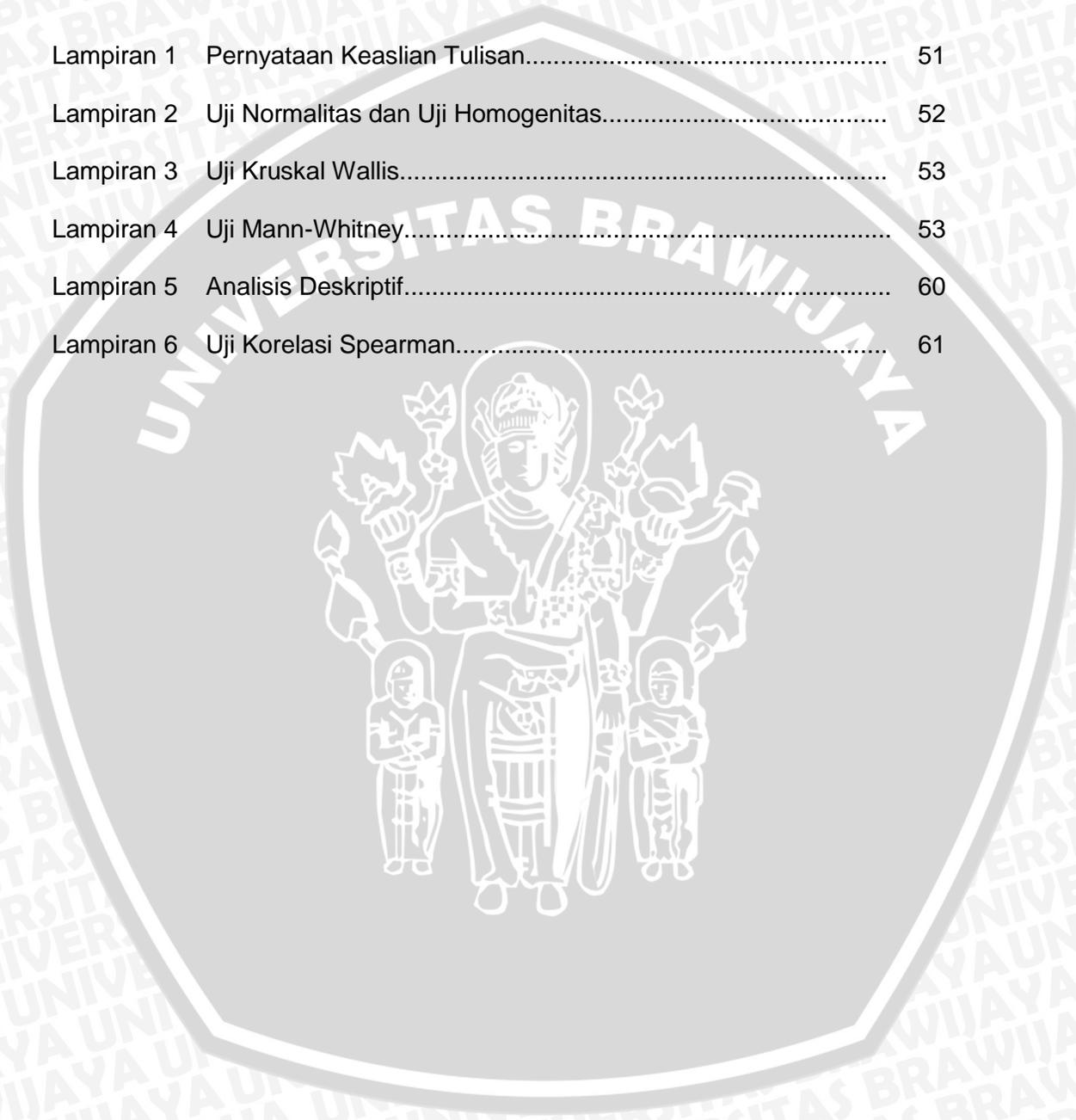
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Gambaran Mikroskopik <i>Salmonella</i> Typhi.....	5
Gambar 2.2	Lengkuas.....	10
Gambar 3.1	Kerangka Konsep.....	18
Gambar 4.1	Alur Kerja Penelitian.....	31
Gambar 5.1	Gambaran Mikroskopik Bakteri <i>Salmonella</i> Typhi.....	34
Gambar 5.2	Bakteri <i>Salmonella</i> Typhi pada Medium Bismuth Sulfite Agar	35
Gambar 5.3	Perbandingan Tingkat Kekeruhan tiap Konsentrasi Ekstrak....	36
Gambar 5.4	Pertumbuhan Koloni <i>Salmonella</i> Typhi pada Media NAP.....	38
Gambar 5.5	Grafik Rata-Rata Jumlah Koloni Bakteri dengan Perlakuan Konsentrasi Ekstrak.....	40



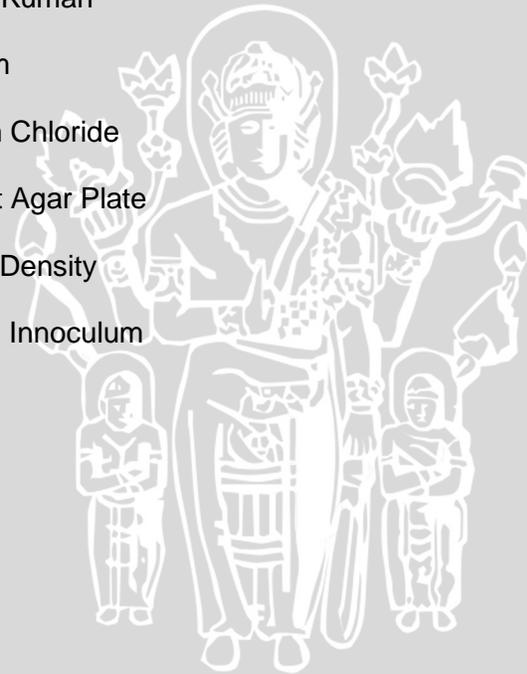
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan.....	51
Lampiran 2	Uji Normalitas dan Uji Homogenitas.....	52
Lampiran 3	Uji Kruskal Wallis.....	53
Lampiran 4	Uji Mann-Whitney.....	53
Lampiran 5	Analisis Deskriptif.....	60
Lampiran 6	Uji Korelasi Spearman.....	61



DAFTAR SINGKATAN

CFU	: Colony Forming Unit
g	: gram
KB	: Kontrol Bahan
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KHM	: kadar Hambat Minimum
KK	: Kontrol Kuman
mg	: miligram
NaCl	: Natrium Chloride
NAP	: Nutrient Agar Plate
OD	: Optical Density
OI	: Original Inoculum



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salmonella Typhi adalah bakteri batang gram negatif yang dapat menginfeksi manusia. Bakteri ini mampu menginvasi jaringan di luar usus, menyebabkan demam enterik dan bentuk yang terberat adalah demam tifoid (typhoid fever) (Dzen *et al.*, 2010).

Penyakit yang dihasilkan dari *Salmonella* Typhi merupakan penyakit menular endemik yang dapat menyerang banyak orang dan masih merupakan masalah kesehatan di daerah tropis terutama di negara-negara sedang berkembang termasuk Indonesia (Musnelina *et al.*, 2004). Penyakit ini menimbulkan masalah karena tidak jarang dapat membawa dampak peningkatan angka morbiditas maupun angka mortalitas. Penyakit ini diperkirakan menyerang 22 juta orang per tahun dengan angka kematian mencapai 200.000 jiwa per tahun. Menurut WHO, pada tahun 2003 terdapat sekitar 900.000 kasus di Indonesia, dan sekitar 20.000 penderitanya meninggal dunia (Rahmawati, 2010).

Oleh karena tingginya angka kematian akibat demam tifoid maka pemberian terapi harus diberikan dengan benar dan hingga tuntas. Saat ini penatalaksanaan demam tifoid yang sering digunakan adalah pemberian antibiotik.

Sejak tahun 1948 kloramfenikol merupakan obat pilihan untuk demam tifoid. Para klinisi di beberapa negara mengamati adanya kasus demam tifoid anak yang berat bahkan fatal, yang ternyata disebabkan oleh *strain Salmonella* Typhi yang resisten terhadap kloramfenikol.

Peneliti India melaporkan adanya kasus demam tifoid yang resisten terhadap kloramfenikol pada tahun 1970, sedangkan di Mexico untuk pertama kali dilaporkan pada tahun 1972. Pada perkembangan resistensi *Salmonella Typhi* selanjutnya, beberapa negara melaporkan adanya *strain multi drug resistance (MDR) Salmonella Typhi* yang resisten terhadap dua atau lebih antibiotika yang lazim digunakan yaitu ampisilin, kloramfenikol dan kotrimoksazol. Thailand (1984) merupakan negara yang pertama kali melaporkan adanya MDR pada demam tifoid anak, selanjutnya diikuti oleh negara lain seperti China (1987), Pakistan (1988), India (1990), Bahrain (1990), Malaysia (1991), Vietnam dan Mesir (1993) (Musnelina *et al.*, 2004).

Sampai saat ini, kloramfenikol masih merupakan terapi pilihan untuk demam tifoid karena efektivitasnya terhadap *Salmonella Typhi* disamping harga obat tersebut relatif murah. Namun dengan banyaknya informasi mengenai timbulnya strain *Salmonella Typhi* yang resisten terhadap kloramfenikol membuat para ahli mencari alternatif obat lain yang terbaik untuk demam tifoid (Musnelina *et al.*, 2004).

Peningkatan resistensi bakteri terhadap antimikroba dapat berakibat pada biaya kesehatan dan semakin tingginya angka mortalitas. Hal ini kemudian menjadi latar belakang pengembangan metode pengobatan yang efektif dan efisien dengan biaya murah. Pengobatan dengan menggunakan bahan alamiah menjadi salah satu alternatif. Salah satu bahan alamiah yang berpotensi sebagai antimikroba adalah lengkuas.

Lengkuas (*Alpinia galanga L. Willd*) merupakan anggota familia Zingiberaceae. Rimpang lengkuas mudah diperoleh di Indonesia dan

sering dipakai sebagai penyedap masakan. Manfaat rimpang lengkuas telah dipelajari oleh para ilmuwan sejak dulu. Rimpang lengkuas memiliki berbagai khasiat di antaranya sebagai antijamur dan antibakteri (Soesanti, 2008). Penelitian Yuharmen *et al.* (2002) menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan mikroba oleh rimpang lengkuas pada beberapa spesies bakteri dan jamur. Bakteri untuk uji aktivitas antibakteri adalah *Escherichia coli* (gram-negatif), *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis* (gram-positif). Jamur yang dipergunakan adalah *Rhizopus sp.*, *Penicillium sp.* dan *Neurospora sp.* Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, ditemukan bahwa tumbuhan lengkuas mengandung golongan senyawa flavonoid (Yuharmen *et al.*, 2002) serta tanin dan polifenol (Darmono, 2008). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka terdapat kemungkinan ekstrak lengkuas dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap *Salmonella Typhi*.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Apakah pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L. Willd) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas dan pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* .

1.3.2.2 Menentukan berapakah nilai kadar hambat minimum (KHM) dan nilai kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak etanol rimpang lengkuas terhadap *Salmonella Typhi* .

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

- Dapat digunakan sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya mengenai manfaat ekstrak etanol rimpang lengkuas sebagai antimikroba.

1.4.2 Manfaat Praktis

- Sebagai terapi alternatif untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella Typhi* . Khususnya setelah ditemukan adanya resistensi pada obat obatan tertentu.
- Menyediakan alternatif obat yang relatif murah dan mudah didapat masyarakat.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Salmonella* Typhi

2.1.1 Klasifikasi *Salmonella* Typhi

Klasifikasi *Salmonella* Typhi adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Class	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Order	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella enterica</i> subspecies <i>enteric</i> serotipe Typhi atau <i>Salmonella</i> Typhi (Brooks <i>et al.</i> , 2008).



Gambar 2.1. Gambaran mikroskopis *Salmonella* Typhi (Todar, 2008).

Batang gram negatif perbesaran 100x .

2.1.2 Morfologi dan Fisiologi *Salmonella* Typhi

Salmonella merupakan bakteri berbentuk batang lurus dengan ukuran 0.7-1,5 x 2-5 mikrometer yang tidak dibentuk spora, Gram

negatif, bergerak dengan flagel peritrik, dan bersifat fakultatif anaerob (Bergey *et al.*, 1994). Pada bakteri gram negatif dinding sel terdiri dari lapisan peptidoglikan dan membran luar yang terdiri dari lipoprotein dan lipopolisakarida (LPS) (Brooks, *et al.*, 2005). Pada *Bismuth Sulfite Agar* koloni bakteri berwarna hitam berkilat logam akibat pembentukan H₂S (Rasmilah, 2001).

2.1.3 Struktur Antigen *Salmonella Typhi*

Genus *Salmonella* memiliki 3 antigen utama yang terdiri dari antigen somatic (O), antigen permukaan dan antigen flagella (H). Antigen somatik (O) merupakan antigen yang terdapat pada dinding sel dan mampu bertahan terhadap suhu panas dan alkohol. Antigen permukaan merupakan antigen yang dapat ditemukan di kapsul bakteri. Satu antigen permukaan yang spesifik adalah antigen Vi yang dapat ditemukan di *Salmonella Typhi*, *Salmonella ParaTyphi*, dan *Salmonella Dublin*. Antigen flagella (H) merupakan antigen yang terdapat pada flagella bakteri dan merupakan protein yang tidak tahan panas (Todar, 2008).

2.1.4 Patofisiologi

Salmonella Typhi bersifat infeksius untuk manusia, dan infeksi oleh organisme tersebut didapatkan dari manusia. Namun, sebagian besar *Salmonella* bersifat patogen terutama bagi hewan yang menjadi reservoir untuk infeksi manusia; unggas, babi, hewan pengerat, hewan ternak, binatang piaraan (dari kura-kura hingga burung kakaktua), dan banyak lainnya (Brooks *et al.*, 2008).

Organisme ini hampir selalu masuk melalui rute oral, biasanya bersama makanan atau minuman yang terkontaminasi. Dosis inefektif rata-rata untuk menimbulkan infeksi klinis atau subklinis pada manusia adalah 10^5 - 10^8 *Salmonella* (mungkin cukup dengan 10^3 organisme *Salmonella* Typhi). Beberapa faktor pejamu yang menimbulkan resistansi terhadap infeksi *Salmonella* adalah keasaman lambung, flora mikroba usus, dan kekebalan usus setempat (Brooks *et al.*, 2008).

Setelah kuman tertelan maka bagian dari inokulum yang tahan asam lambung dapat mencapai usus halus kemudian berpenetrasi ke dalam mukosa usus. Kuman ini kemudian dimakan oleh fagosit mononuklear yang terdapat dalam *Peyer patches* usus dan limfonodi mesentrika (Butler *et al.*, 2002). Semua manifestasi klinis yang timbul pada infeksi *Salmonella* terjadi setelah adanya penetrasi bakteri ke dalam usus (Lewis, 1992). Bakteri ini akan berpindah ke dalam aliran darah dan menyebar ke berbagai organ, bermultiplikasi di jaringan limfe, dan diekskresikan melalui feses (Braunwald *et al.*, 2005).

2.1.5 Manifestasi Klinis

Penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enteritica*, khususnya serotype *Salmonella* Typhi adalah demam tifoid (Rahmawati, 2010). Adapun manifestasi klinisnya sebagai berikut :

Minggu pertama infeksi, gejalanya adalah letargi, demam, malaise, dan nyeri tubuh. Konstipasi lebih sering terjadi daripada diare. Selama waktu ini, bakteri mengadakan

penetrasi ke dalam dinding usus dan menginfeksi sistem limfatik. Sebagian lainnya akan masuk ke dalam peredaran darah dan menginfeksi sistem retikuloendotelial. Pada kedua tempat ini, bakteri akan dimakan oleh sel-sel monosit tetapi tidak terbunuh, bahkan masih bisa mengadakan multiplikasi di dalam sel monosit tersebut (Dzen *et al.*, 2003).

Selama minggu kedua dari penyakitnya, bakteri masuk lagi ke dalam aliran darah, menyebabkan bakteremia yang kedua. Infeksi pada saluran empedu dan lain-lain terjadi pada waktu ini. Penderita tampak sakit berat dengan panas tinggi sampai 40°C. Diare dapat terjadi pada minggu kedua atau ketiga dari penyakitnya. Setelah minggu ketiga penderita tampak lelah dan masih panas tetapi menunjukkan adanya perbaikan apabila tidak mengalami komplikasi. Komplikasi yang dapat terjadi berupa perforasi usus, perdarahan hebat, pneumonia, dan pembentukan abses. Angka kematian berkisar antara 2%-10%. Sekitar 20% penderita akan mengalami kekambuhan (Dzen *et al.*, 2003).

2.1.6 Pengobatan

Sejak tahun 1948 kloramfenikol merupakan obat pilihan untuk demam tifoid. Dosis kloramfenikol pada orang dewasa 4 kali 500 mg sehari oral atau intravena selama 4 – 5 hari bebas demam dengan lama perawatan berkisar antara 17 – 23 hari. Para klinisi di beberapa negara mengamati adanya kasus demam tifoid anak yang berat bahkan fatal, yang ternyata disebabkan oleh *strain Salmonella Typhi*

yang resisten terhadap kloramfenikol. Peneliti India melaporkan adanya kasus demam tifoid yang resisten terhadap kloramfenikol pada tahun 1970, sedangkan di Mexico untuk pertama kali dilaporkan pada tahun 1972. Pada perkembangan resistensi *Salmonella Typhi* selanjutnya, beberapa negara melaporkan adanya *strain multi drug resistance (MDR) Salmonella Typhi* yang resisten terhadap dua atau lebih antibiotika yang lazim digunakan yaitu ampisilin, kloramfenikol dan kotrimoksazol. Thailand (1984) merupakan negara yang pertama kali melaporkan adanya MDR pada demam tifoid anak, selanjutnya diikuti oleh negara lain seperti China (1987), Pakistan (1988), India (1990), Bahrain (1990), Malaysia (1991), Vietnam dan Mesir (1993) (Musnelina *et al.*, 2004).

Sampai saat ini, kloramfenikol masih merupakan terapi pilihan untuk demam tifoid karena efektivitasnya terhadap *Salmonella Typhi* disamping harga obat tersebut relatif murah (Musnelina, 2004).

2.2 Lengkuas (*Alpinia galanga* L. Willd)

2.2.1 Taksonomi Lengkuas

Taksonomi Lengkuas (*Alpinia galanga* L. Willd) adalah sebagai berikut

Kingdom	: Plantae
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Subdivision	: Angiospermae
Class	: Monocotyledon

Order : Zingiberales
Family : Zingiberaceae
Genus : Alpinia
Species : *Alpinia galanga* L. Willd
(Tjitrosoepomo, 1994)



Gambar 2.2. Lengkuas (Chudiwal, 2010)

2.2.2 Karakteristik Lengkuas

Lengkuas telah lama dikenal masyarakat Indonesia dan menyebar di seluruh dunia. Lengkuas memiliki nama ilmiah *Alpinia galanga* L. Willd. Lengkuas merupakan tanaman rempah yang biasa ditemui ditanam di sekitar rumah. Lengkuas merupakan tumbuhan berizom dan berumpun yang berumur tahunan. Lengkuas dapat mencapai ketinggian 1,5-2,5 meter. Lengkuas membiak melalui rizomnya. Lengkuas memerlukan tanah yang beraliran baik dan agak gembur untuk membantu pertumbuhan rizomnya (Muhlisah, 2004).

Lengkuas mempunyai batang pohon berupa batang semu yang terdiri dari susunan pelepah pelepah daun. Daun daunnya berbentuk bulat panjang dengan ujung meruncing, permukaan atas hijau mengkilap, sedangkan permukaan bawah pucat, terlihat garis

putih agak keras pada tepi daun dan antara daun yang terdapat pada bagian bawah terdiri dari pelepah pelepah lengkap dengan helaian daun. Bunganya muncul pada bagian ujung tumbuhan, berwarna putih kehijauan, lembaran lidah bunga berwarna putih bergaris merah dengan ujung bercuping dua. Rimpang umbi lengkuas selain berserat kasar juga mempunyai aroma yang khas (Muhlisah, 2004).

Lengkuas ditemukan menyebar diseluruh dunia. Lengkuas dapat tumbuh di kawasan dataran rendah hingga ke kawasan dataran tinggi sekitar 1200 meter dari permukaan laut. Untuk tumbuhnya, lengkuas menyukai tanah gembur, sinar matahari banyak, sedikit lembab tetapi tidak tergenang air. Kondisi tanah yang disukai berupa tanah liat berpasir, banyak mengandung humus, beraerasi dan drainase baik (Muhlisah, 2004).

2.2.3 Manfaat Lengkuas

Lengkuas merupakan tumbuhan rempah-rempah yang sangat populer di seluruh Asia enggara khususnya di Thailand. Banyak dijumpai juga di Malaysia, Indonesia, Kamboja, Vietnam, dan daratan China selatan. Di China, lengkuas merupakan salah satu dari lima bahan utama rempah-rempah bubuk. Di negara-negara barat, memang lengkuas ini tidak terlalu populer, paling tidak untuk jaman kita ini. Tetapi pada awal abad pertengahan, tanaman ini merupakan bahan rempah yang sangat berharga (Udjiana, 2008).

Lengkuas sering dipakai sebagai penyedap masakan. Dapat digunakan dalam keadaan segar maupun setelah berupa bubuk

kering. Kedua cara penggunaan ini akan memberikan cita rasa yang sangat berbeda. Di Sumatera bubuk kering legkuas merupakan bahan bumbu utama untuk membuat masakan rendang. Orang Jawa, madura, dan bali juga memanfaatkan rimpang lengkuas untuk membuat obat tradisional, yang lebih sering disebut jamu (Udjiana, 2008).

Manfaat rimpang lengkuas telah dipelajari oleh para ilmuwan sejak dulu. Rimpang lengkuas memiliki berbagai khasiat di antaranya sebagai antijamur dan antibakteri (Soesanti, 2008). Penelitian Yuharmen *et al.* (2002) menunjukkan adanya aktifitas penghambatan pertumbuhan mikroba oleh rimpang lengkuas pada beberapa spesies bakteri dan jamur.

2.2.4 Kandungan Aktif Antimikroba

Pada skrining aktivitas antimikroba yang dilakukan dengan rimpang lengkuas, rimpang lengkuas menunjukkan aktivitas antimikrobanya terhadap *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, dan *Aspergillus niger* (Sinaga, 2004). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, ditemukan bahwa tumbuhan lengkuas mengandung golongan senyawa flavonoid (Yuharmen, 2002) serta tanin, saponin, dan polifenol (Darmono, 2008).

2.2.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar di alam, terdapat pada semua tumbuhan hijau, termasuk pada ekstrak temu-temuan yang banyak dikonsumsi masyarakat sebagai obat tradisional

(Suradikusumah, 1989). Flavonoid telah dikenal luas memiliki aktivitas sebagai senyawa antioksidan, antimelanogenesis, dan antimikroba yang potensi (Sulistyo *et al.*, 1999). Penelitian secara *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam (Sabir, 2003), salah satu diantaranya yakni memiliki aktivitas antibakteri (Mirzoeva, 1997). Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri (Pelczar, 1998). Senyawa flavonoid bisa diekstraksi menggunakan pelarut etanol (Sabir, 2005).

2.2.4.2 Tanin

Menurut Ajizah (2004) tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.

2.2.4.3 Polifenol

Polifenol ini diketahui mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Hal ini dibuktikan oleh hasil penelitian Alberto *et al.* (2006), yang menunjukkan polifenol dari kulit apel dapat menghambat bakteri patogen pada manusia seperti *E. Coli* dan *Staphylococcus aureus* (Kunaepah, 2008).

Mekanisme penghambatan antibakteri polifenol antara lain adalah dengan cara (Kunaepah, 2008):

- a. Mengganggu pembentukan dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuk tak

terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah, molekul fenol lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein dan dapat melarut pada fase lipid dari membran bakteri.

- b. Bereaksi dengan membran sel. Komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel bakteri.

2.2.5 Mekanisme Penghambatan Mikroorganisme oleh Antimikroba

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba antara lain disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: (Kunaepah, 2008)

- a. Mengganggu pembentukan dinding sel

Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen limfofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Efek penghambatan senyawa antibakteri lebih efektif terhadap bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan perbedaan komponen penyusun dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut.

- b. Bereaksi dengan membran sel

Mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma sehingga mengakibatkan kebocoran materi intraseluler.

c. Menginaktivasi enzim

Mekanisme yang terjadi menunjukkan kerja enzim terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba, sehingga mengakibatkan enzim akan memerlukan energi dalam jumlah besar untuk aktivitasnya. Akibatnya energi untuk pertumbuhan menjadi berkurang, sehingga aktivitas mikroba menjadi terhambat dan inaktif apabila berlangsung lama.

d. Menginaktivasi fungsi material genetik

Merusak materi genetik sehingga mengganggu proses pembelahan sel untuk pembiakan.

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswarna, 1995).

2.2.6 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Uji kepekaan terhadap obat antimikroba pada dasarnya dapat dilakukan melalui 2 cara, yaitu : (Dzen *et al.*, 2003)

- Metode dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat

antimikroba. Menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan jumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengantidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji.

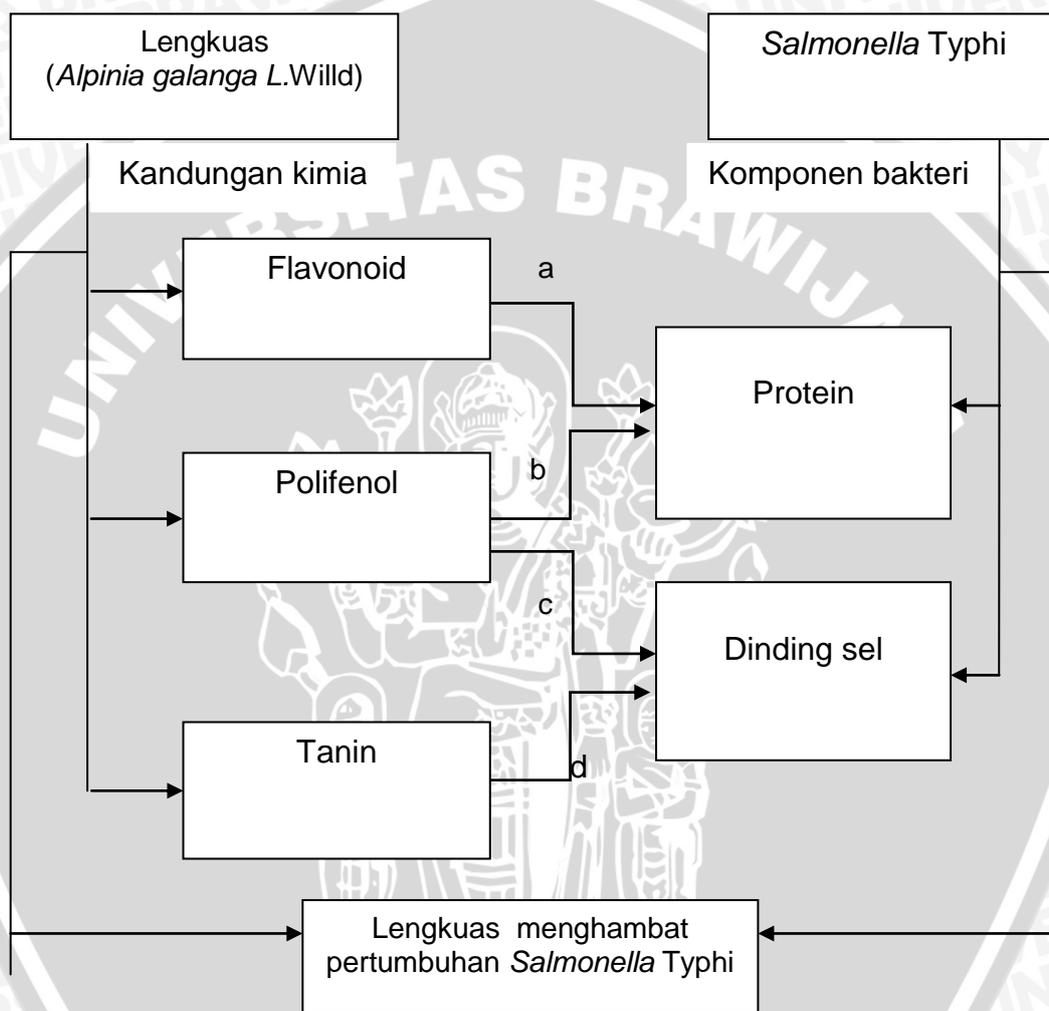
- Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah obat diijernihkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Skema Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka konsep

Keterangan : a. Mendenaturasi protein sel bakteri;

b. Mendenaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat sel bakteri;

c. Mengganggu pembentukan dinding sel bakteri;

d. Merusak dinding sel bakteri.

Tumbuhan lengkuas mengandung golongan senyawa flavonoid (Yuharmen *et al.*, 2002) serta tanin dan polifenol (Darmono, 2008) yang memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri (Pelczar, 1998). Mekanisme penghambatan antibakteri polifenol antara lain adalah dengan cara mengganggu pembentukan dinding sel dan bereaksi dengan membran sel. Komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Kunaepah, 2008). Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004). Dari fungsi yang didapatkan dalam kandungan tumbuhan lengkuas terhadap bakteri *Salmonella Typhi*, maka dapat disimpulkan bahwa tumbuhan lengkuas mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella Typhi*.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol rimpang lengkuas memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Salmonella Typhi* secara *in vitro*.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan *tube dilution test* untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol lengkuas sebagai antimikroba terhadap *Salmonella Typhi* secara *in vitro*. *Tube dilution test* dilakukan melalui 2 tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada medium cair untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) dan tahap kedua penggoresan pada media NAP (*Nutrient Agar Plate*) untuk menentukan KBM (Kadar Bunuh Minimum). Uji identifikasi mikroba menggunakan pewarnaan gram dan penanaman pada medium *Bismuth Sulfite Agar* (BSA).

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang yang dilakukan selama bulan Januari sampai bulan Februari 2013.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol rimpang lengkuas dan *Salmonella Typhi* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Pada penelitian ini, digunakan 5 macam dosis konsentrasi perlakuan berbeda dan 1 kontrol bakteri, sehingga jumlah pengulangan yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus estimasi pengulangan sebagai berikut:

$$p(n-1) \geq 15 \text{ (Notobroto, 2005)}$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5 \approx 4$$

keterangan : n = jumlah pengulangan

p = jumlah perlakuan

Jadi, pada masing - masing perlakuan dalam penelitian ini dilakukan 4 kali pengulangan.

4.4 Variabel Penelitian

Tabel 4.1 Variabel Penelitian

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Bebas	Konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas	Dengan menggunakan pipet	Ekstrak etanol rimpang lengkuas dibuat dengan konsentrasi 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%	Numerik
Tergantung	Jumlah koloni bakteri <i>Salmonella</i> Typhi yang tumbuh pada medium NAP	Dengan menggunakan <i>colony counter</i>	Berdasarkan perhitungan jumlah koloni	Numerik

4.5 Definisi Operasional

- Rimpang lengkuas yang digunakan dalam penelitian ini dibeli dari Balai Materia Medika di kota Batu yang ditanam di perkebunan milik Balai Materia Medika Batu.
- Ekstrak etanol rimpang lengkuas adalah rimpang lengkuas yang dikeringkan dan dibuat bentuk serbuk kemudian diekstraksikan menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi.
- Isolat bakteri *Salmonella* Typhi yang digunakan pada penelitian ini adalah 4 isolat *Salmonella* Typhi, yaitu 2 isolat yang berasal dari Malang, satu isolat dari Bandung, dan satu isolat dari Surabaya yang dikoleksi oleh Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol rimpang lengkuas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* Typhi. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak etanol rimpang lengkuas dan suspensi bakteri tersebut dalam tabung setelah diinkubasikan 18-24 jam (Dzen *et al.*, 2003).
- Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi minimal ekstrak etanol rimpang lengkuas yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri *Salmonella* Typhi. Hal ini ditandai dengan jumlah koloni pada NAP yang telah dilakukan inokulasi (penggoresan) dengan satu ose larutan ekstrak etanol rimpang lengkuas yang telah diberi bakteri uji tersebut, dengan jumlah koloni kurang dari 0,1% *original inoculum* (Dzen *et al.*, 2003).

- Kontrol bahan adalah ekstrak etanol rimpang lengkuas murni yang tidak dicampur bakteri *Salmonella* Typhi yang digunakan untuk mengetahui apakah bahan yg digunakan steril.
- Kontrol bakteri adalah biakan bakteri *Salmonella* Typhi murni yang tidak dicampur dengan ekstrak etanol rimpang lengkuas.
- *Original inoculum* adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml yang diinokulasikan pada media agar padat kemudian diinkubasi, digunakan untuk menentukan KBM.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Pembuatan Ekstrak Rimpang Lengkuas

4.6.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak rimpang lengkuas antara lain: blender untuk menghaluskan rimpang lengkuas, kertas saring untuk membungkus serbuk rimpang lengkuas, gelas ekstraksi, seperangkat evaporator vakum, alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary* evaporator, tabung pendingin, dan pompa sirkulasi air dingin, bak penampung air dingin, pompa vakum, tabung penampung etanol, cawan penguap, dan neraca analitik.

4.6.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak rimpang lengkuas antara lain rimpang lengkuas, etanol 96%, dan aquades.

4.6.2 Alat dan Bahan Untuk Pewarnaan Gram Bakteri

Alat yang digunakan untuk pewarnaan gram bakteri adntara lain gelas objek, kertas penghisap, mikroskop binokuler, ose, minyak emersi,

dan air. Bahan yang digunakan adalah isolat *Salmonella* Typhi, kristal violet, lugol, alkohol 96%, dan safranin.

4.6.3 Alat dan Bahan untuk Uji Dilusi Tabung

Alat dan bahan yang digunakan untuk uji dilusi tabung antara lain: tabung reaksi, pipet steril, karet penghisap, inkubator, ekstrak etanol rimpang lengkuas, vortex, perbenihan cair standard, bunsen, korek api, gelas objek, plate kosong steril, alat penjepit steril, kapas, dan *colony counter*.

4.7 Rancangan Operasional Penelitian

4.7.1 Pembuatan Sediaan Ekstrak Lengkuas

Pembuatan ekstrak lengkuas dimulai dengan persiapan sampel rimpang lengkuas kering, dilanjutkan pembuatan sediaan ekstrak rimpang lengkuas yang terdiri atas proses ekstraksi dan evaporasi.

a. Persiapan sampel rimpang lengkuas kering

Rimpang lengkuas dipotong kecil-kecil dan dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender (sample kering).

b. Ekstraksi

- 1) Rimpang lengkuas yang sudah dalam bentuk serbuk ditimbang (50 gram).
- 2) Sampel kering tersebut dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter.
- 3) Kemudian direndam dengan etanol 96% hingga volumenya 900 ml.
- 4) Dikocok hingga benar-benar tercampur (\pm 30 menit).

- 5) Didiamkan selama 1 malam sampai mengendap.
- 6) Proses ekstraksi ini dilakukan sampai hasil ekstraksi jernih.
Kemudian hasil ekstraksi siap untuk dievaporasi.

c. Evaporasi

- 1) Diambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif lengkuas yang sudah terlarut, lalu dimasukkan dalam labu evaporasi 1 liter.
- 2) Labu evaporasi dipasang pada evaporator.
- 3) *Water bath* diisi dengan air sampai penuh.
- 4) Semua rangkaian alat dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* diatur sampai suhu 78°C, sesuai dengan titik didih etanol (Buckley, 2006), lalu disambungkan dengan aliran listrik.
- 5) Larutan etanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
- 6) Ditunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (\pm 1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu).
- 7) Ekstrak kemudian ditimbang dengan neraca analitik.
- 8) Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik dan masukkan dalam *freezer*.

4.7.2 Identifikasi Ulang bakteri *Salmonella* Typhi

Sebelum digunakan untuk penelitian, isolat *Salmonella* Typhi yang diperoleh diidentifikasi ulang dengan beberapa metode identifikasi antara lain: perwarnaan Gram (didapatkan bentuk Gram negatif) dan penanaman pada BSA (*Bismuth Sulfite Agar*).

4.7.2.1 Pewarnaan Gram

- a. Bersihkan gelas obyek dengan kapas dan lewatkan diatas api untuk menghilangkan lemak. Kemudian biarkan dingin
- b. Buat sediaan bakteri diatas gelas obyek dengan ketebalan yang cukup (tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis) dan dibiarkan kering diudara. Kemudian difiksasi diatas lampu bunsen.
- c. Sediaan dituangi dengan Kristal Violet. Setelah 1 menit, sediaan dibilas dengan air.
- d. Kemudian sediaan dituangi dengan Lugol. Setelah 1 menit, sediaan dibilas dengan air.
- e. Sediaan dituangi dengan alkohol 96%. Setelah 5-10 detik, sediaan dibilas dengan air.
- f. Sediaan dituangi dengan Safranin. Setelah setengah menit, sediaan dibilas dengan air.
- g. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, selanjutnya dilihat dibawah mikroskop dengan obyektif perbesaran 100x. Hasil yang tampak bakteri *Salmonella* Typhi berbentuk batang berwarna merah. (Dzen *et al.*, 2003)

4.7.2.2 Penanaman Pada BSA (*Bismuth Sulfite Agar*).

Penanaman bakteri pada *Bismuth Sulfite Agar* (BSA) merupakan media selektif terhadap pertumbuhan *Salmonella* Typhi. Penanaman bakteri pada media tersebut didapatkan

gambaran *black jet colony* (terbentuknya koloni hitam) yang merupakan gambaran khas dari *Salmonella Typhi*.

4.7.3 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan 10^6 bakteri/mL

- Ambil koloni *Salmonella Typhi* dengan karakteristik sama dari media *Nutrient Agar Plate* dengan menggunakan ose.
- Masukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *nutrient broth*, kemudian lakukan spektrofotometri pada tabung reaksi tersebut dengan panjang gelombang 625nm, untuk mengetahui *optical density (OD)* dari suspensi tersebut.
- Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 /mL yang setara dengan OD (*Optical Density*) =0,1, lakukan penghitungan sebagai berikut:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

(Murray *et al.*, 1999)

Keterangan:

N_1 = Hasil spektrofotometri

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah dengan pengencer

N_2 = OD (0,1 setara dengan 10^8)

V_2 = Volume suspense bakteri uji (10mL)

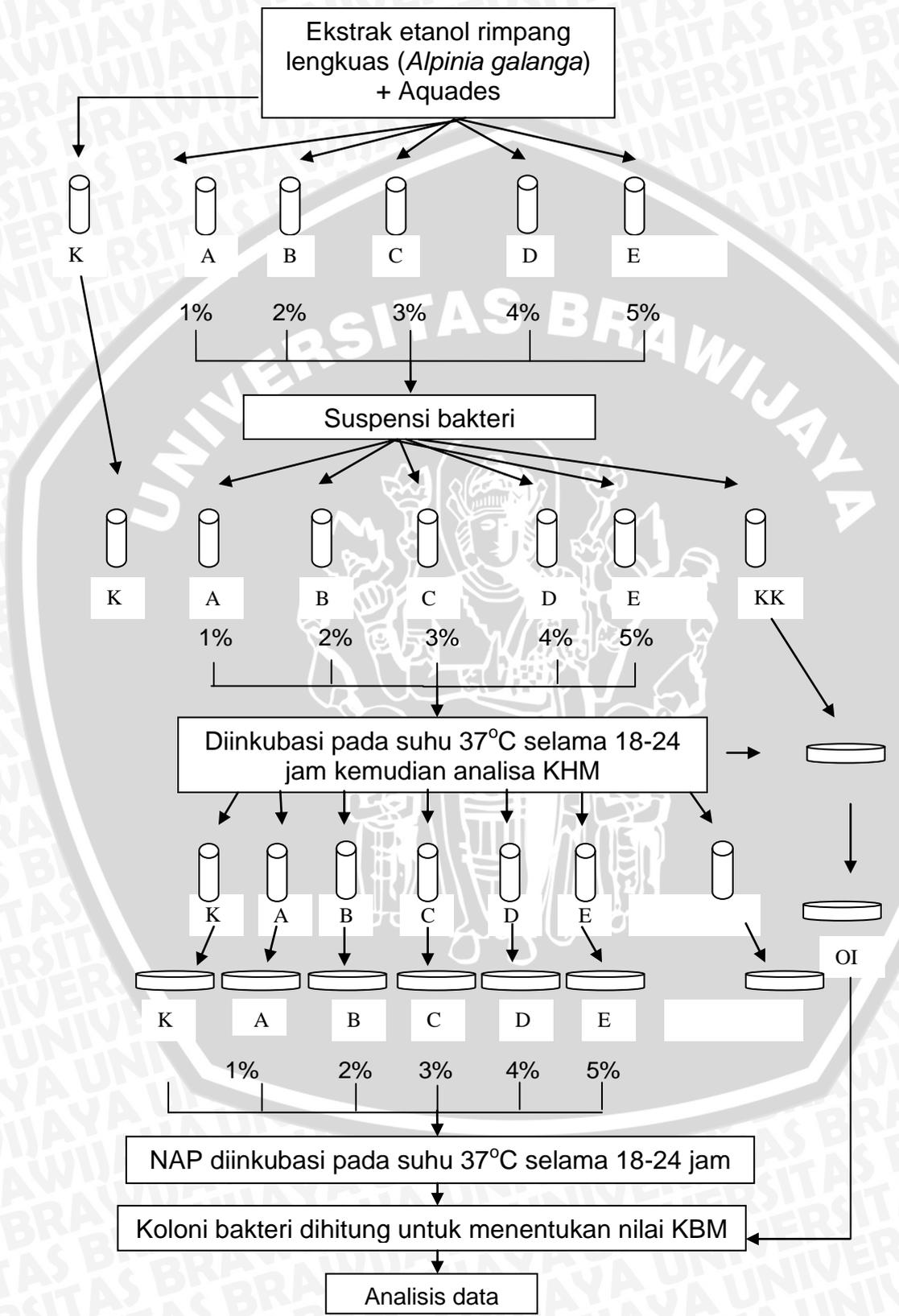
- Sehingga diperoleh volume (mL) bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi 10^8 /mL sebanyak 10 mL
- Setelah diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 /mL sebanyak 10mL, dilakukan pengenceran sebanyak 100 kali

dengan menggunakan NaCl dan *nutrient broth*, sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^6 /mL. Kini bakteri telah siap digunakan untuk penelitian.

4.7.4 Uji Antimikroba

- Ekstrak etanol rimpang lengkuas dikocok agar larutan ekstrak menjadi homogen dan tidak mengendap. Untuk perlakuan yang diambil adalah larutannya.
- Sediakan 7 tabung steril, 5 tabung sebagai uji antibakteri, 1 tabung sebagai kontrol bahan (KB) dan 1 tabung sebagai kontrol kuman (KK).
- Masukkan 0,99 ml aquades steril ke dalam tabung 1 lalu tambahkan 0,01 ml ekstrak etanol rimpang lengkuas (1%).
- Masukkan 0,98 ml aquades steril ke dalam tabung 2 lalu tambahkan 0,02 ml ekstrak etanol rimpang lengkuas (2%).
- Masukkan 0,97 ml aquades steril ke dalam tabung 3 lalu ditambahkan 0,03 ml ekstrak etanol rimpang lengkuas (3%).
- Masukkan 0,96 ml aquades steril ke dalam tabung 4 lalu ditambahkan 0,04 ml ekstrak etanol rimpang lengkuas (4%).
- Masukkan 0,95 ml aquades steril ke dalam tabung 5 lalu ditambahkan 0,05 ml ekstrak etanol rimpang lengkuas (5%).
- Masukkan 1 ml suspensi bakteri *Salmonella* Typhi saja ke dalam tabung KK tanpa menambahkan ekstrak etanol rimpang lengkuas (0%).
- Masukkan 1 ml suspensi bakteri *Salmonella* Typhi dengan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml ke dalam tabung 1-5.

- Ambil bakteri dari tabung bertanda 0% (KK) sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada NAP sebagai *original inoculum* kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.
- Setelah 18-24 jam, hari kedua, diperhatikan dan dicatat derajat kekeruhan pada semua tabung. Cara membaca derajat kekeruhan adalah dengan meletakkan sebuah kertas putih dibelakang tabung, dimana sebelumnya pada kertas tersebut digambar sebuah garis hitam, kemudian garis hitam tersebut diperhatikan dari depan tabung. Konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan kekeruhan adalah KHM.
- Semua tabung dikeluarkan dari incubator, kemudian dari masing-masing tabung dilusi diambil satu ose kemudian diinokulasikan pada NAP yang berbeda. Kemudian diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C.
- Pada hari ketiga didapatkan data KBM dan dilakukan pengamatan pada masing-masing konsentrasi dengan cara menghitung jumlah bakteri dengan *colony counter*. KBM ditentukan dari tidak adanya jumlah bakteri yang tumbuh pada NAP atau jumlah bakteri tersebut $< 0,1\%$ OI.



Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian.

4.8 Analisis Data

Analisis data menggunakan uji statistik *One Way ANOVA* untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas terhadap jumlah koloni bakteri *Salmonella Typhi*. Data jumlah koloni bakteri terlebih dahulu diuji untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji prasyarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *One way ANOVA*. Jika dari hasil uji normalitas menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0.05$) dan uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ($p > 0.05$), maka dapat dilakukan uji beda parametrik *One way ANOVA*.

Data penelitian ini adalah varians normal namun tidak homogen meskipun telah dilakukan transformasi. Dengan demikian syarat uji parametrik tidak terpenuhi dan analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*.

Analisis data untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* adalah uji korelasi Spearman. Data penelitian ini adalah data numerik dan numerik, maka untuk uji korelasi digunakan uji korelasi Pearson. Namun, data yang dimiliki penelitian ini tidak memenuhi syarat uji parametrik sehingga analisis data menggunakan uji korelasi Spearman (Dahlan, 2011).

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Ekstrak Lengkuas

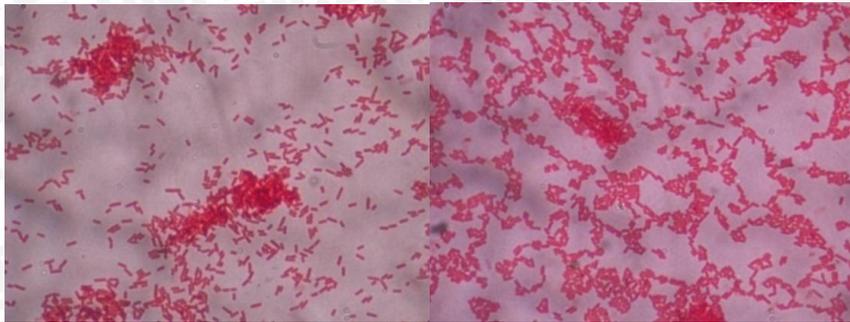
Ekstrak lengkuas yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari 50 gram serbuk kering rimpang lengkuas yang diekstrak dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Didapatkan ekstrak rimpang lengkuas sebanyak 16 gram. Bentuk ekstrak ini cair, tidak kental, berwarna kuning jernih, dan tidak terdapat endapan.

5.1.2 Hasil Identifikasi *Salmonella Typhi*

Sebelum melakukan uji efek antimikroba, terlebih dahulu dilakukan identifikasi bakteri *Salmonella Typhi* yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. *Salmonella Typhi* yang digunakan adalah hasil isolat yang berasal dari pasien yang terinfeksi *Salmonella Typhi* dari Malang (2), Bandung, dan Surabaya. Identifikasi bakteri dilakukan melalui dua tahap, yaitu:

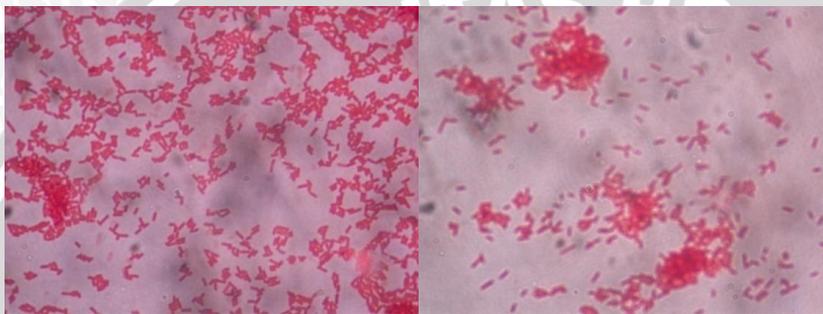
- Pewarnaan Gram
- Penanaman bakteri pada medium *Bismuth Sulfite Agar* (BSA)

Tahap pertama adalah Pewarnaan Gram. Dari Pewarnaan Gram, diperoleh hasil batang Gram negatif yang ditandai dengan warnamerah pada bakteri (Gambar 5.1).



Isolat 1 (Malang)

Isolat 2 (Malang)

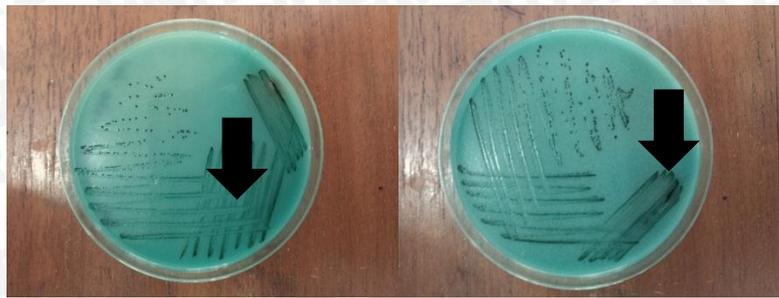


Isolat 3 (Bandung)

Isolat 4 (Surabaya)

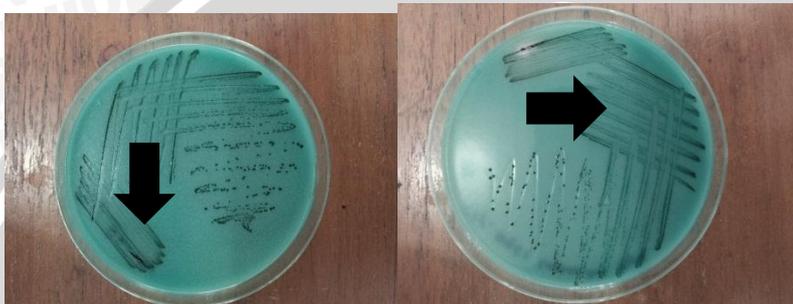
Gambar 5.1. Gambaran Mikroskopik Bakteri *Salmonella* Typhi dengan Perbesaran 1000x dengan Pewarnaan Gram (Gram negatif, Berbentuk Batang dan Berwarna Merah).

Tahap kedua adalah penanaman bakteri pada medium agar *Bismuth Sulfite* Agar (BSA). Pada medium BSA, *Salmonella* Typhi akan memberikan karakteristik koloni yang khas, yaitu berwarna hitam atau yang biasa disebut *Black Jet Colony* (Gambar 5.2).



Isolat 1 (Malang)

Isolat 2 (Malang)



Isolat 3 (Bandung)

Isolat 4 (Surabaya)

Gambar 5.2. Bakteri *Salmonella* Typhi pada Medium Bismuth Sulfite Agar (Koloni berwarna hitam atau Black Jet Colony)

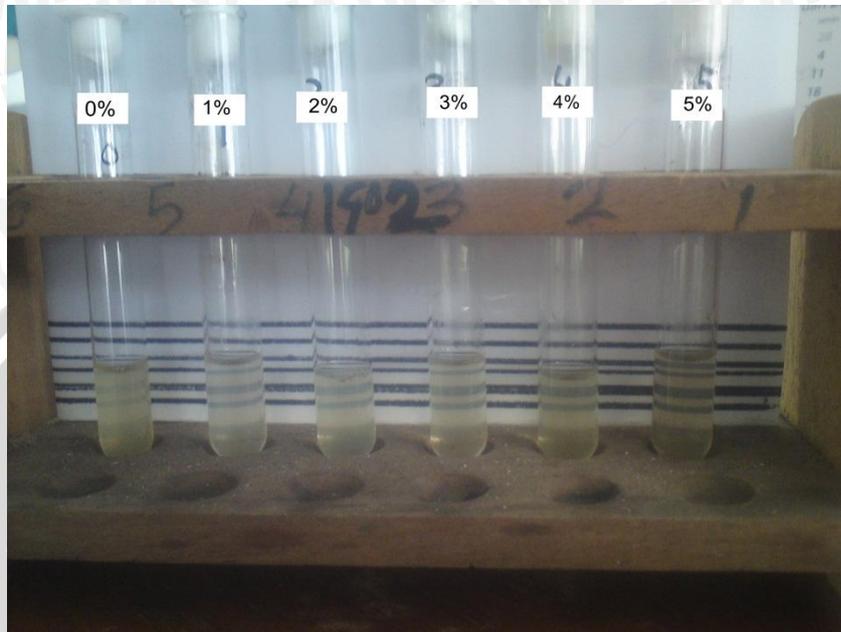
Berdasarkan hasil dari tahapan identifikasi dapat disimpulkan bahwa bakteri yang akan diujikan merupakan *Salmonella* Typhi.

5.1.3 Hasil Pengamatan Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas Terhadap Bakteri *Salmonella* Typhi

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas, dengan variasi 0% (Kontrol Kuman); 1%; 2%; 3%; 4%; 5%. KHM (Kadar Hambat Minimal) adalah kadar terendah antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasi selama 18-24 jam (Dzenet *al.*, 2003).

Ekstrak etanol rimpang lengkuas berwarna kuning jernih. Warna larutan sebelum dan setelah diinkubasi terlihat jernih namun terdapat perbedaan tingkat

kejernihan. Dari perbedaan tingkat kejernihan maka dapat ditentukan KHM pada konsentrasi 5%.



Gambar 5.3. Perbandingan Tingkat Kekeruhan tiap Konsentrasi Ekstrak. Pada konsentrasi 5% tidak terlihat adanya kekeruhan (KHM).

5.1.4 Hasil Pengukuran Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas Terhadap Bakteri *Salmonella* Typhi pada Media NAP

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, tiap konsentrasi ekstrak tersebut diinokulasi pada NAP dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi NAP dengan menggunakan *colony counter* untuk melihat kadar bunuh minimum (KBM) dari ekstrak etanol rimpang lengkuas.

KBM merupakan kadar terendah dari mikroba yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada NAP) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal

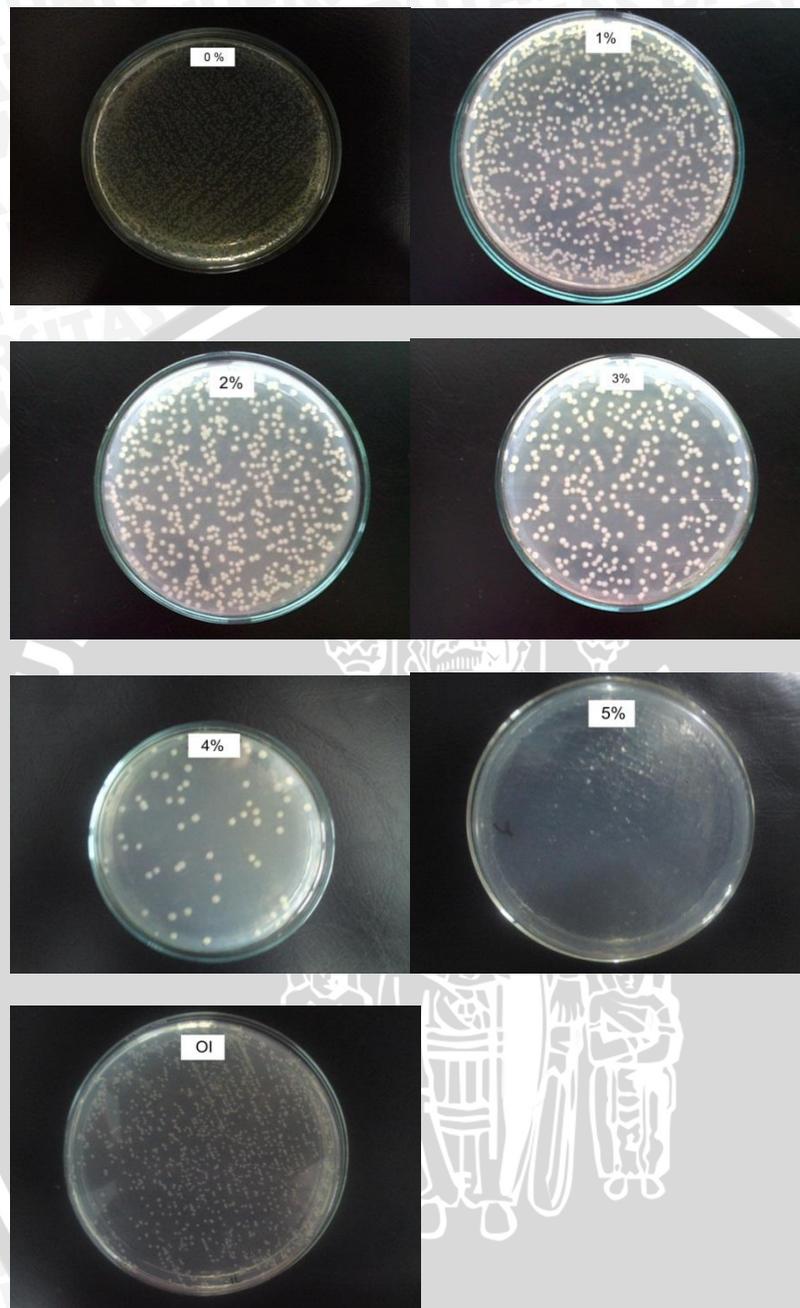
(original inoculum/OI) pada medium NAP yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose sebelumnya (Dzenet *al.*, 2003).

Hasil pengukurannya dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan pertumbuhan *Salmonella* Typhida diperbenihan media NAP dapat diamati pada Gambar 5.4.

Tabel 5.1 Jumlah Koloni *Salmonella* Typhi pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak (per ose, 1 μ l)

Konsentrasi	Jumlah Bakteri <i>Salmonella</i> Typhi				Rerata
	1	2	3	4	
0% (KK)	21,3x10 ⁵	22x10 ⁵	21,5x10 ⁵	21,8x10 ⁵	21,7x10 ⁵ ± 32886, 2
1%	797	803	785	764	787,25 ± 17, 212
2%	597	467	564	552	545 ± 55, 371
3%	310	278	302	290	295 ± 14,00
4%	146	152	130	128	139 ± 11,832
5%	0	0	0	0	0
OI	1140	1220	1000	980	1085 ± 114,74

Keterangan : OI : Original Inoculum ± 10⁶ CFU/ml

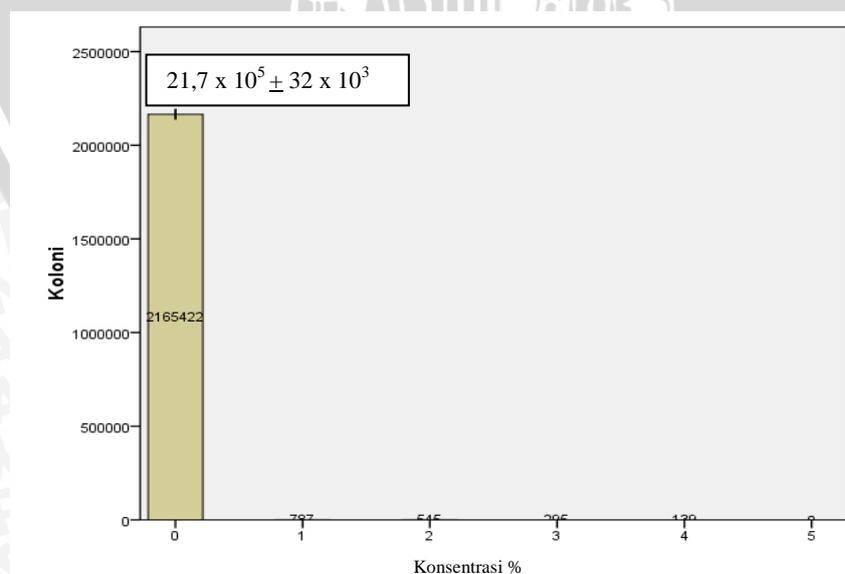


Gambar 5.4 Pertumbuhan Koloni *Salmonella* Typhi pada Media NAP

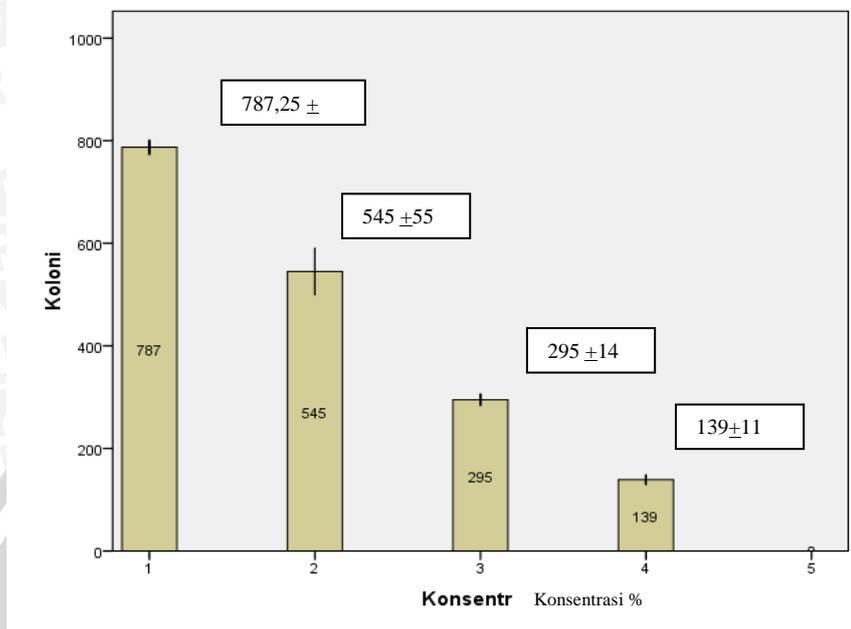
Keterangan: *Salmonella* Typhi diinokulasi pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 0%; *Salmonella* Typhi diinokulasi pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 1%; Kontrol *Salmonella* Typhi diinokulasi pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 2%; *Salmonella* Typhi diinokulasi pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 3%; *Salmonella* Typhi diinokulasi pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 4% masih terlihat beberapa bakteri; *Salmonella* Typhi diinokulasi pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 5% sama sekali tidak terlihat pertumbuhan bakteri; Original Inoculum (OI). Terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dapat menurunkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

Pada cawan petri kontrol kuman didapatkan koloni rata-rata sejumlah $21,7 \times 10^5$ koloni, pada konsentrasi ekstrak 1% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 787,5 koloni, pada konsentrasi ekstrak 2% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 545 koloni, pada konsentrasi ekstrak 3% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 295 koloni, pada konsentrasi ekstrak 4% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 139 koloni, dan pada konsentrasi ekstrak 5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 0 koloni. Dari hasil pengukuran dapat diketahui bahwa terjadi penurunan rata-rata jumlah koloni *Salmonella* Typhi seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas.

Berdasarkan Gambar 5.6 dan Tabel 5.1 diperoleh nilai KBM pada konsentrasi 5% dimana konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu $< 0,1\%$ dari OI (*Original Inoculum* : 1085). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Hal ini dapat dilihat lebih jelas pada Gambar 5.6 berikut :



(a)



(b)

Gambar 5.5 Grafik Rerata Jumlah Koloni *Salmonella Typhi* setelah Perlakuan Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas

Keterangan : konsentrasi : dalam persen(%), koloni : per 10⁶ CFU/ml

- (a) Rerata jumlah koloni *Salmonella Typhi* dengan konsentrasi 0% (KK)
- (b) Rerata jumlah koloni *Salmonella Typhi* tanpa konsentrasi 0% (KK)

5.2 Analisis Data

Data jumlah koloni bakteri terlebih dahulu di uji untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji prasyarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *One way ANOVA*. Jika dari hasil uji normalitas menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0.05$) dan uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ($p > 0.05$), maka dapat dilakukan uji beda parametric *One way ANOVA*.

Untuk mengetahui distribusi data, dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* karena jumlah sampel < 50 . Tampak $p > 0,05$ pada semua

kelompok yang menunjukkan bahwa distribusi data normal. Setelah dilakukan uji homogenitas varians, didapatkan nilai $p=0,00$ yang menunjukkan bahwa data memiliki varians tidak homogen ($p<0,05$). Data memiliki varians tidak homogen selanjutnya dilakukan transformasi data. Hasil uji varians pada kelompok setelah transformasi menunjukkan bahwa varians tidak homogen ($p<0.005$). Dengan demikian syarat uji parametrik tidak terpenuhi dan analisis dilanjutkan dengan uji komparatif non-parametrik *Kruskal Wallis*.

Dari uji beda *Kruskal Wallis*, terdapat perbedaan yang signifikan jumlah koloni bakteri setelah terpapar ekstrak pada berbagai konsentrasi ($p = 0.000$) mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri.

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi *Mann Whitney* guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Dari Uji *Mann Whitney* didapatkan perbedaan jumlah koloni yang bermakna antara kelompok konsentrasi 0% jika dibandingkan dengan semua kelompok

perlakuan ($p < 0.05$). Dengan kata lain terdapat penurunan jumlah koloni bakteri yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak.

Uji korelasi non parametrik *Spearman* menunjukkan nilai signifikansi ($P\text{-value}$) = 0.000 ($p < 0.05$) dan *correlation coefficient* -0.989 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). *Spearman correlation coefficient* (r) bernilai negative berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi dosis/konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri, serta menunjukkan korelasi yang sangat kuat ($r > 0.799$). Menurut Dahlan (2011), $r = \text{koefisien korelasi}$,

menunjukkan kekuatan korelasi. Korelasi kuat ($r < 0.500$), korelasi sedang ($r = 0.500-0.599$), korelasi lemah ($r = 0.600-0.799$), korelasi sangat kuat ($r > 0.799$).



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak etanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga L. Willd*) terhadap bakteri *Salmonella Typhi* secara *in vitro*, yang dibuktikan dengan melihat Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rimpang lengkuas, yang dibeli di Balai Materia Medika di kota Batu. Lengkuas dalam penelitian ini diekstrak dengan etanol 96% dengan metode maserasi. Etanol dipilih sebab bahan aktif yang terdapat pada lengkuas yaitu senyawa flavonoid dapat larut terhadap etanol. Sedangkan maserasi digunakan karena metode ini lebih mudah diaplikasikan masyarakat.

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Salmonella Typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan untuk penelitian, isolat bakteri *Salmonella Typhi* telah diidentifikasi dengan dua jenis tes, yaitu tes pewarnaan Gram dan penanaman pada medium BSA (*Bismuth Sulfite Agar*). Pada pewarnaan Gram didapatkan koloni berbentuk batang Gram negatif dan berwarna merah. Lalu dilanjutkan dengan penanaman pada medium BSA (*Bismuth Sulfite Agar*) yang menunjukkan koloni khas berwarna hitam atau yang biasa disebut sebagai *Black Jet Colony*.

Kadar Hambat Minimum dilakukan dengan mengamati tingkat kekeruhan larutan. Warna ekstrak etanol rimpang lengkuas adalah kuning jernih sehingga

kekeruhan dari masing-masing konsentrasi perlakuan dapat diamati secara kualitatif untuk menentukan KHM yaitu pada konsentrasi 5%.

Untuk menentukan Kadar bunuh Minimum perlu dilakukan penelitian eksplorasi terlebih dahulu. Konsentrasi yang digunakan untuk penelitian pengulangan 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 0%. Berdasarkan hasil penghitungan koloni didapatkan bahwa pertumbuhan koloni yang jumlahnya $\leq 0,1\%$ dari OI terdapat pada konsentrasi 5%, dimana pada penelitian eksplorasi yang dilakukan sebelumnya, pada uji konsentrasi 6% tidak terdapat pertumbuhan koloni. Oleh karena itu dapat ditentukan KBM dari ekstrak rimpang lengkuas terhadap bakteri *Salmonella Typhi* adalah 5%.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Dzen *et al.* (2005) tentang efek antimikroba ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap *Salmonella Typhi* didapatkan hasil KBM adalah 20%. Penelitian antimikroba terhadap *Salmonella Typhi* juga pernah dilakukan oleh Nainggolan (2010) menggunakan ekstrak buah mengkudu sebagai bahan uji antimikroba dan didapatkan KHM pada konsentrasi 6,25%. Uji efektivitas daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai Antimikroba terhadap *Salmonella Typhi* pernah dilakukan oleh Baskoro *et al.* (2010). metode penelitian yang dipakai adalah dilusi tabung yang dilanjutkan penggoresan pada lempeng agar padat BSA dan diperoleh KHM pada konsentrasi 35%. Suryani *et al.* (2004) melakukan penelitian daya antibakteri madu terhadap beberapa kuman patogen secara *in vitro* dan didapatkan KHM untuk *S. Typhi* sebesar 18,75%.

Dari beberapa penelitian tersebut mengindikasikan ekstrak etanol rimpang lengkuas lebih efisien jika dibandingkan dengan ekstrak temulawak, buah mengkudu, daun salam, dan madu dikarenakan dengan konsentrasi lebih

rendah mampu membunuh bakteri *S. Typhi* , yaitu dengan konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas sebesar 5%.

Aktivitas antimikroba yang dimiliki oleh lengkuas diduga berasal dari unsur-unsur yang terkandung didalamnya, antara lain golongan senyawa flavonoid (Yuharmen *et al.*, 2002) serta tanin, saponin, dan polifenol (Darmono, 2008). Senyawa flavonoid diduga memiliki mekanisme kerja dengan mendenaturasi protein sel bakteri (Pelczar, 1998). Menurut Ajizah (2004) tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri itu sendiri. Mekanisme penghambatan antibakteri polifenol dilakukan dengan dua cara, yaitu mengganggu pembentukan dinding sel dan bereaksi dengan membran sel. Komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein (Kunaepah, 2008).

Dengan melihat fakta hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Salmonella Typhi* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan data kandungan bahan aktif ekstrak etanol rimpang lengkuas yang mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella Typhi* , maka dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas terbukti efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella Typhi* secara *in vitro*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang telah disusun sebelumnya adalah benar.

Keterbatasan penelitian ini antara lain adalah tidak adanya standarisasi dalam pemilihan bahan ekstrak rimpang lengkuas. Faktor lain yang mungkin mempengaruhi adalah lamanya masa penyimpanan ekstrak. Makin lama disimpan, maka sensitifitas ekstrak kemungkinan akan menurun.

Aplikasi klinis dari penelitian ini memang masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai standarisasi bahan aktif apa saja yang dapat digunakan

dan berapa konsentrasi yang efektif sebagai antimikroba serta umur dari rimpang lengkuas yang akan digunakan. Selain itu masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui batasan dosis yang aman untuk ekstrak etanol rimpang lengkuas sebagai antimikroba bagi *S. Typhi* agar dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif oleh masyarakat luas



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

7.1.1 Ekstrak etanol rimpang lengkuas terbukti efektif mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. Typhi* secara *in vitro*, semakin besar ekstrak yang digunakan maka jumlah bakteri akan semakin menurun.

7.1.2 Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak rimpang lengkuas terhadap pertumbuhan bakteri *S. Typhi* adalah pada konsentrasi 5%.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah :

- Perlu ada standardisasi pemilihan bahan dalam pembuatan ekstrak rimpang lengkuas (umur rimpang lengkuas) serta lama masa simpan ekstrak yang masih dapat digunakan sebagai antimikroba.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui batasan dosis yang aman untuk ekstrak etanol rimpang lengkuas sebagai antimikroba bagi *S. Typhi* agar dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif oleh masyarakat luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A., 2004, *Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. Bioscientiae*, Vol. 1, No. 1 : 31-8.
- Alberto M.R., Canavosio M.A.R., Nadra M.C.M. 2006. *Antimikrobal Effect of Polifenol from Apple Skins on Human Bacterial Pathogen*. Electronic journal of Biotechnology. Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso-Chile.
- Baskoro, A.D., Vidyana, E., Ekawati, S.W. 2010. *Efektifitas Daun Salam (Syzygium polyanthum) Sebagai Antimikroba Terhadap Salmonella typhi Secara In Vitro*. (Abstrak). Diterbitkan oleh Universitas Brawijaya, Malang.
- Bergey HD, Holt GJ. 1994. *Bergey's Manual of Determinative bacteriology-9*. McGrawHill, USA.
- Braunwald, E., Fauci, A.S., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Lango, D.L., Jamensin, J.L. 2005. *Harrison's Principles of Internal Medicine Volume I*. 16th edition. Mc. Graw-Hill Companies, Inc: New York, p. 897-902.
- Buckley, Smith MK. 2006. *The Use of Solubility Parameters to Select Membrane Materials for Pervaporation of Organic Mixtures*. New Zealand : thesis for the degree of Doctor of Philosophy at the University of Waikato Hamilton.
- Butler T, Scheld WM. 2002. *Cecil textbook of medicine 22nd Vol 2*. Elsevier Inc, Philadelphia.
- Brooks GF, Butel J.S., Morse S.A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta: EGC.
- Chudiwal AK, 2010. *Alpinia galanga Willd-an overview on Phyto Pharmacological Properties*. Maharashtra, India : Sinhgad College of Pharmacy.
- Dahlan, M. Sopiudin. 2011. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta : Salemba Medika.
- Darmono, Gholib D. 2008. *Pengaruh Ekstrak Lengkuas Putih Terhadap Infeksi Trichophyton Mentagrophytes Pada Kelinci*. Jakarta : Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.

- Dzen. S.M., Wibowati, S., Purwarini, A.W.2005. Efek Antimikroba Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap *Salmonella Typhi* secara in vitro. Malang : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Dzen. S.M., Winarsih, S., Roekitiningsih, D, Santoso, S., Sumarno, Islam, S., Noorhamdani, Murwani, S., Santosaningsih, D. Hidayati, D.Y.N.2003. *Bakteriologi Medik*. Malang : Bayumedia Publishing.
- Dzen. S.M., Winarsih, S., Roekitiningsih, D, Santoso, S., Sumarno, Islam, S., Noorhamdani, Murwani, S., Santosaningsih, D. 2010. *Bakteriologi Medik*. Surabaya : Putra Media Nusantara.
- Ganiswarna, S.G, 1995. *Farmakologi Dan Terapi*. Gaya Baru, Jakarta.
- Kunaepah, Uun.2008. *Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah*. Tesis. Diterbitkan oleh Program Studi Magister Gizi Masyarakat Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang.
- Lewis MJ. 1992. *Medical Microbiology* 14th. Longman UK Group Ltd, UK.
- Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. *Antimicrobial Action Of Propolis And Some Of Its Components: The Effects On Growth, Membrane Potential, And Motility Of Bacteria*. *Microbiol Res* 1997; 152:239-46.
- Muhlisah F, Ir, 2004. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: penebar Swadaya. 46-48.
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. 1999. *Manual of Clinical Microbiology* 7th edition. American Society for Microbiology.
- Musnelina, Lili; Afdhal, AF; Gani Ascobat; dan Andayani, Pratiwi. *Pola Pemberian antibiotika Pengobatan Demam Tifoid Anak di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002*. *Makara Kesehatan* Vol.8 (1) hal 27-31. Juni 2004.
- Nainggolan D.P. 2010. *EfekAntimikrobaEkstrakBuahMengkudu (Morindacitrofolia L.) Terhadap Salmonella typhi*. (Abstrak).DiterbitkanolehUniversitasMuhammadiyah Malang, Malang.
- Notobroto, B.H.
2005. *PenelitianEksperimental dalam MateriPraktikum Teknik Sampling*

- dan Perhitungan Besar Sampel Angkatan III. Surabaya. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Pelczar, MJ. (1998). *Dasar-dasar Mikrobiologi 2 (Terjemahan)*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Rahmawati, 2010. *Analisis Spasiotemporal Kasus Demam Tifoid Di Kota Semarang*. Program Pendidikan Sarjana kedokteran FK Universitas Diponegoro.
- Rasmilah. 2001. *Thyphus*. Diterbitkan oleh USU Digital Library. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Sabir A. *Pemanfaatan Flavonoid Di Bidang Kedokteran Gigi*. Maj Ked Gigi (Dent J) FKG Unair 2003; (Edisi khusus Timnas III): 81–7.
- Sabir, Ardo. 2005. *Aktivitas antibakteri flavonoid propolis Trigona sp terhadap bakteri Streptococcus mutans (in vitro)*. Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.), Vol. 38. No. 3 Juli–September 2005: 135–141.
- Sinaga E, 2004. *Alpinia galanga (L) Willd.* P3TO UNAS. http://images.toiusd.multiply.com/journal?&page_start=160&show_interstitial=1&u=%2Fjournal 20 desember 2011. Pukul 16:34.
- Soesanti, Noor, 2008. *Aktivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas (Alpinia galanga) terhadap Pertumbuhan Jamur Aspergillus spp. Penghasil Aflatoxin dan Fusarium moniliforme*. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- Sulistyo J dan YS Soeka. 1999. *Bioproses Enzimatis Dan Uji Hayati Aktivitas Polifenol-Glikosida Sebagai Senyawa Antimikroba Dan Antimelanogenesis*. Dalam : Kosela dan WP Suwarsono (Penyunting). *Kimia Bahan Alam*. Prosiding Seminar Nasional. UI-UNESCO, Jakarta.
- Suradikusumah E. 1989. *Kimia Tumbuhan*. PAU-IPB, Bogor.
- Suryani, L. Meida, NS. 2004. *Daya Antibakteri madu terhadap beberapa Kuman Patogen secara In Vitro*. Yogyakarta : Universitas Muhammadiyah.
- Tjitrosoepomo. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat*. Yogyakarta : Gajahmada Press.
- Todar, Kenneth. 2008. *Salmonella and Salmonellosis*. (Online), (http://www.textbookofbacteriology.net/salmonella_5.html), Diakses tanggal 3 Desember 2011).

Udjiana, Sigit. 2008. *Upaya Pengawetan Makanan Menggunakan Ekstrak Lengkuas*. Malang : Politeknik Negeri Malang.

Yuharmen, Eryanti, Y., and Nurbalatif, 2002, *Uji Aktivitas Antimikroba Minyak atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (Alpinia galanga)*. Riau : Universitas Riau.



Lampiran 1: Pernyataan Keaslian Tulisan

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Priscilla D.A Damaraasri

NIM : 0910710105

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

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

Malang, 26 Februari 2013

Yang Membuat Pernyataan,

Priscilla D.A Damaraasri
0910710105

Lampiran 2: Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

- Uji Normalitas

Tests of Normality^b

Grup	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Koloni 1	.131	4	.	.999	4	.998
2	.214	4	.	.933	4	.613
3	.300	4	.	.907	4	.467
4	.191	4	.	.979	4	.894
5	.277	4	.	.874	4	.312
7	.271	4	.	.897	4	.416

a. Lilliefors Significance Correction

b. Koloni is constant when Grup = 6. It has been omitted.

- Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.167	6	21	.000

Test of Homogeneity of Variances

Trans

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.499	6	21	.001

Lampiran 3: Uji Kruskal Wallis

Ranks

Grup	N	Mean Rank
Koloni 1	4	26.50
2	4	18.50
3	4	14.50
4	4	10.50
5	4	6.50
6	4	2.50
7	4	22.50

Ranks

	Grup	N	Mean Rank
Koloni	1	4	26.50
	2	4	18.50
	3	4	14.50
	4	4	10.50
	5	4	6.50
	6	4	2.50
	7	4	22.50
Total		28	

Test Statistics^{a,b}

	Koloni
Chi-Square	26.555
Df	6
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Grup

Lampiran 4: Uji Mann Whitney

- Tingkat Signifikansi Hasil Analisis dengan Uji *Mann Whitney*

Keterangan :

1 : Dosis 0% ; 2 : Dosis 1% ; 3 : Dosis 2% ; 4 : Dosis 3% ; 5 : Dosis 4% ; 6 : Dosis 5% ; 7 :

OIK : Koloni

K1-2**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	1	4	6.50	26.00
	2	4	2.50	10.00
Total		8		

K1-3

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	1	4	6.50	26.00
	3	4	2.50	10.00
	Total	8		

K1-4**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	1	4	6.50	26.00
	4	4	2.50	10.00
	Total	8		

K 1-5**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	1	4	6.50	26.00
	5	4	2.50	10.00
	Total	8		

K 1-6

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	1	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
	Total	8		

K 1-7**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	1	4	6.50	26.00
	7	4	2.50	10.00
	Total	8		

K 2-3**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	2	4	6.50	26.00
	3	4	2.50	10.00
	Total	8		

K 2-4**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	2	4	6.50	26.00
	4	4	2.50	10.00
Total		8		

K 2-5**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	2	4	6.50	26.00
	5	4	2.50	10.00
Total		8		

K 2-6**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	2	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
Total		8		

K 2-7**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	2	4	2.50	10.00
	7	4	6.50	26.00
Total		8		

K 3-4**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	3	4	6.50	26.00
	4	4	2.50	10.00
Total		8		

K 3-5**Test Statistics^b**

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	3	4	6.50	26.00
	5	4	2.50	10.00
Total		8		

K 3-6

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	3	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
Total		8		

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

K 3-7

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	3	4	2.50	10.00
	7	4	6.50	26.00
Total		8		

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

K 4-5

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	4	4	6.50	26.00
	5	4	2.50	10.00
Total		8		

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

K 4-6

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	4	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
Total		8		

K 4-7

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	4	4	2.50	10.00
	7	4	6.50	26.00
Total		8		

K 5-6

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni	5	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
Total		8		

K 5-7

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni 5	4	2.50	10.00
7	4	6.50	26.00
Total	8		

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

K 6-7

Test Statistics^b

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Koloni 6	4	2.50	10.00
7	4	6.50	26.00
Total	8		

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grup

Lampiran 5: Analisis Deskriptif

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
0	4	2.1654E6	32886.17917	1.64431E4	2.13E6	2.20E6
1	4	7.8725E2	17.21191	8.60596	764.00	803.00
2	4	5.4500E2	55.37147	27.68574	467.00	597.00
3	4	2.9500E2	14.00000	7.00000	278.00	310.00
4	4	1.3900E2	11.83216	5.91608	128.00	152.00
5	4	.0000	.00000	.00000	.00	.00
6	4	1.0850E3	114.74610	57.37305	980.00	1220.00
Total	28	3.0975E5	7.71553E5	1.45810E5	.00	2.20E6

Lampiran 6: Uji Korelasi Spearman

Correlations

			koloni	Konsentrasi
Spearman's rho	koloni	Correlation Coefficient	1.000	-.989**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	24	24
	Konsentrasi	Correlation Coefficient	-.989**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

