

PENGARUH EKSTRAK *ETHANOL* RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber officinale var.rubrum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Acinetobacter baumannii* SECARA *IN VITRO*

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi persyaratan

Mencapai Sarjana S-1 pada Program Studi Pendidikan Dokter



Oleh :

Anna Oolita Miliarta

145070107111014

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

2019



DAFTAR ISI

Halaman

Judul..... i

Halaman Pengesahan..... ii

Kata Pengantar..... iii

Abstrak v

Abstract vi

Daftar Isi vii

Daftar Gambar x

Daftar Tabel..... xii

Daftar Lampiran xiii

Daftar Singkatan xiv

BAB 1 PENDAHULUAN 1

 1.1 Latar Belakang 1

 1.2 Rumusan Masalah..... 4

 1.3 Tujuan Penelitian..... 4

 1.3.1 Tujuan Umum 4

 1.3.2 Tujuan Khusus 4

 1.4 Manfaat Penelitian..... 4

 1.4.1 Manfaat Akademik..... 4

 1.4.2 Manfaat Praktis..... 5

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA 6

 2.1 Bakteri *Acinetobacter baumannii* 6

 2.1.1 Taksonomi..... 7



2.1.2	Identifikasi dan Morfologi.....	7
2.1.3	Manifestasi Klinis.....	8
2.1.4	Mekanisme Resistensi Antibiotik.....	10
2.2	Jahe Merah (<i>Zingiber officinale var. rubrum</i>).....	10
2.2.1	Taksonomi.....	11
2.2.2	Morfologi.....	11
2.2.3	Persebaran dan Perkembangan Tumbuhan.....	12
2.2.4	Manfaat Jahe Merah.....	13
2.2.5	Jahe Merah Sebagai Antibakteri.....	14
2.2.6	Efek Jahe Merah Terhadap Bakteri <i>Acinetobacter spp</i>	15
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....		16
3.1	Kerangka Konsep.....	16
3.2	Keterangan Kerangka Konsep.....	17
3.3	Hipotesis Penelitian.....	18
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		19
4.1	Rancangan Penelitian.....	19
4.2	Populasi dan Sampel.....	19
4.3	Variabel Penelitian.....	20
4.3.1	Variabel Bebas.....	20
4.3.2	Variabel Tergantung.....	20
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	20
4.5	Bahan dan Alat Penelitian.....	20
4.5.1	Bahan dan Alat Pembuatan Ekstrak <i>Ethanol</i> Rimpang Jahe Merah.....	20
4.5.2	Bahan dan Alat Identifikasi Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	21
4.5.3	Bahan dan Alat Uji Dilusi Tabung.....	21
4.6	Definisi Operasional.....	21
4.7	Prosedur Penelitian.....	23
4.7.1	Sterilisasi Alat.....	23
4.7.2	Pembuatan Ekstrak <i>Ethanol</i> Rimpang Jahe Merah.....	23
4.7.3	Identifikasi Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	25
4.7.3.1	Pewarnaan Gram.....	25
4.7.3.2	Penanaman pada <i>MacConkey</i>	25
4.7.3.3	Tes Katalase.....	26
4.7.3.4	Tes Oksidase.....	26
4.7.3.5	VITEK-2.....	26
4.7.4	Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	27
4.7.5	Pembuatan <i>Original Inoculum</i>	27
4.7.6	Uji Antibakteri Ekstrak <i>Ethanol</i> Rimpang Jahe Merah Terhadap Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i> Secara Dilusi Tabung.....	28
4.7.6.1	Uji Pendahuluan Dilusi Tabung.....	28

4.7.6.2 Uji Dilusi Tabung Menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM)	29
4.7.6.3 Uji Dilusi Tabung Menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM)	29
4.7.6.4 Kerangka Operasional Penelitian	30
4.8 Analisis Data	31
BAB 5 HASIL PENELITIAN	33
5.1 Hasil Penelitian	33
5.1.1 Hasil Ekstrak <i>Ethanol</i> Rimpang Jahe Merah	33
5.1.2 Hasil Identifikasi Ulang Bakteri	33
5.1.2.1 Pengecatan Gram	33
5.1.2.2 Inokulasi pada Medium <i>MacConkey</i>	34
5.1.2.3 Tes Katalase	35
5.1.2.4 Tes Oksidase	35
5.1.2.5 VITEK-2	36
5.1.3 Uji Efektifitas Antibakteri	36
5.1.3.1 Uji Pendahuluan	36
5.1.3.2 Menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM)	37
5.1.3.3 Menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM)	38
5.2 Analisa Data	39
5.2.1 Uji Beda rata-rata	39
5.2.2 Uji Korelasi	41
BAB 6 PEMBAHASAN	42
BAB 7 PENUTUP	47
7.1 Kesimpulan	47
7.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	54



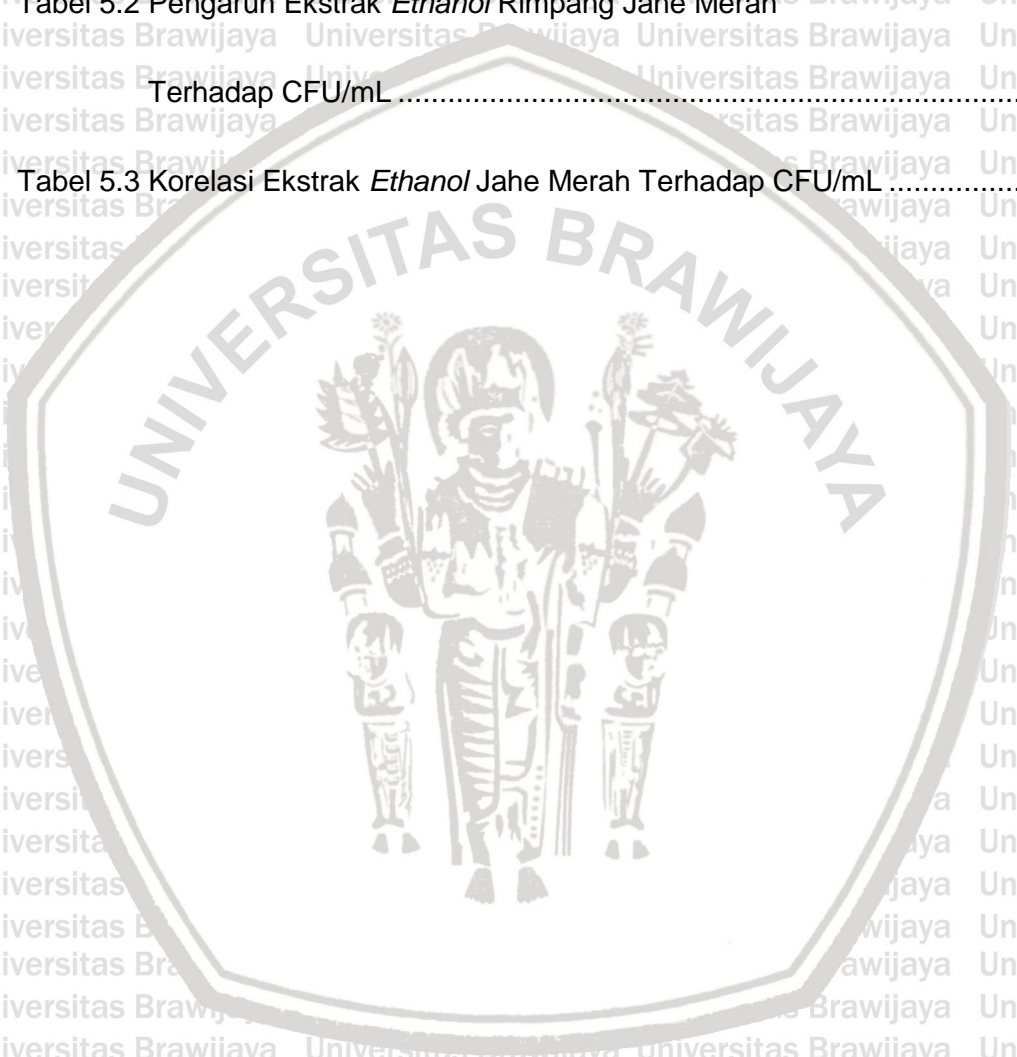
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Identifikasi <i>Acinetobacter baumannii</i>	8
Gambar 2.2 Morfologi Tanaman Jahe Merah.....	12
Gambar 5.1 Hasil Pengecatan Gram Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	34
Gambar 5.2 Hasil Inokulasi pada Medium <i>MacConkey</i>	34
Gambar 5.3 Hasil Uji Katalase Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	35
Gambar 5.4 Hasil Uji Oksidase Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	35
Gambar 5.5 Hasil Uji Pendahuluan Ekstrak <i>Ethanol</i> Rimpang Jahe Merah Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	36
Gambar 5.6 Hasil Inkubasi Dilusi Tabung Ekstrak <i>Ethanol</i> Rimpang Jahe Merah Terhadap Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	37
Gambar 5.7 Hasil Pengulangan Ekstrak <i>Ethanol</i> Rimpang Jahe Merah Terhadap Bakteri <i>Acinetobacter baumannii</i>	38



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan KBM dengan Colony Counter dalam CFU/mL.....	39
Tabel 5.2 Pengaruh Ekstrak <i>Ethanol</i> Rimpang Jahe Merah Terhadap CFU/mL.....	40
Tabel 5.3 Korelasi Ekstrak <i>Ethanol</i> Jahe Merah Terhadap CFU/mL.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Uji Beda54

Lampiran 2 Uji Korelasi65

Lampiran 3 Kunci Determinasi Tanaman69

Lampiran 4 Hasil VITEK-2 *Acinetobacter baumannii*70





DAFTAR SINGKATAN

ANOVA : *Analysis of Variance*

CFU : *Colony forming unit*

DMSO : *dimethylsulfoxide*

DNA : *deoxyribonucleic acid*

E. coli : *Escherichia coli*

g : gram (satuan berat)

H₂O₂ : hydrogen peroxide

ICU : Intensive Care Unit

KBM : Kadar Bunuh Minimal

KHM : Kadar Hambat Minimal

MDR : Multi drug resistant

MDRA : Multi drug resistant Acinetobacter

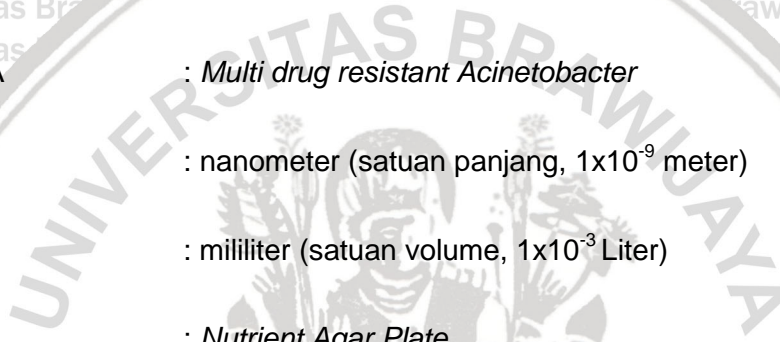
nm : nanometer (satuan panjang, 1x10⁻⁹ meter)

mL : mililiter (satuan volume, 1x10⁻³ Liter)

NAP : Nutrient Agar Plate

RNA : ribonucleic acid

spp : species





HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH EKSTRAK *ETHANOL RIMPANG JAHE MERAH (Zingiber officinale var.rubrum)* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Acinetobacter baumannii* SECARA *IN VITRO*

Oleh:

Anna Oolita Miliarta

145070107111014

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 29 Agustus 2019

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr.dr. Sri Andarig, M.Kes
NIP. 195804141987012001

Pembimbing I/Penguji II

Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK(K)
NIP. 194812201980021002

Pembimbing II/Penguji III

dr. Indrastuti Normahayu, Sp.Rad(K)
NIP. 196302241989102001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Miliarta, Anna Oolita. 2019. **Pengaruh Ekstrak *Ethanol* Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Acinetobacter baumannii* Secara *In Vitro***. Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter, s Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr.dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK(K) (2) dr. Indrastuti Normahayu, Sp.Rad(K)

Penyakit infeksi akibat tindakan medis terutama rawat inap terlalu lama merupakan penyakit infeksi yang semakin sering ditemui, salah satunya oleh bakteri *Acinetobacter baumannii*. Infeksi ini paling sering terjadi oleh penggunaan ventilator dan kateter terlalu lama. *Acinetobacter baumannii* memiliki mekanisme pembentukan biofilm dan resistensi terhadap beberapa antibiotik. Jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) adalah salah satu bahan rempah yang mudah di cari dan sering dimanfaatkan di Asia Tenggara, terutama Indonesia sebagai obat tradisional maupun makanan. Diketahui jahe merah sendiri memiliki berbagai macam manfaat, salah satunya sebagai antibakteri. Studi ini bermaksud mengetahui pengaruh ekstrak *ethanol* dari rimpang jahe merah sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain test only control group dengan metode dilusi tabung. Pada analisis data didapatkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan dan nyata antar kelompok perlakuan ditunjukkan dengan data CFU/mL ($p < 0.001$). Dengan hasil analisis data yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*

Kata kunci: jahe merah, *Acinetobacter baumannii*, *in vitro*

ABSTRACT

Miliarta, Anna Oolita. 2019. **Effect of Red Ginger Extract (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) on *Acinetobacter baumannii* Bacterial Growth In Vitro.**

Final Assignment. Medical Program, Medical Faculty Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK(K), (2) dr. Indrastuti Normahayu, Sp. Rad(K)

Infectious diseases due to medical personnel, mainly due to long term hospitalization often cause common infectious disease, which is *Acinetobacter baumannii* is one of them. This infection occurs most often by using a ventilator and catheter for too long. *Acinetobacter baumannii* has a mechanism for biofilm formation and resistance to several antibiotics. Red ginger (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) is one of the ingredients of spices that is easy to find and often used in Southeast Asia, especially Indonesia as a traditional medicine and food. It is known that red ginger itself has a variety of benefits, one of them is antimicrobial. This study intends to determine the effect of ethanol extract from the red ginger rhizome as an inhibitor of the growth of *Acinetobacter baumannii* bacteria in vitro. This research is an experimental study with a test only control group design with tube dilution method. In the data analysis it was found that there were significant differences between treatment groups indicated by CFU/mL data ($p < 0.001$). With the results of the analysis of the data obtained, it can be concluded that the ethanol extract of red ginger rhizome can inhibit the growth of *Acinetobacter baumannii* bacteria.

Keyword: red ginger, *Acinetobacter baumannii*, in vitro

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang dalam kurun waktu ke waktu bersama dengan teknologi dan kemajuan dalam tatalaksana pengobatan infeksi. Penyakit ini paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, salah satunya adalah Indonesia (Rashid et al., 2004). Penyakit infeksi merupakan invasi dari organisme pencetus yang berkembang biak dalam tubuh dengan bereplikasi pada organisme inang. Organisme penyebab infeksi tersebut bisa berupa virus, bakteri, parasit, protozoa maupun jamur (JrJaneway, Travers & Walport, 2001).

Bakteri *Acinetobacter baumannii* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi nosokomial di seluruh dunia (Peleg, Seifert & Paterson, 2008). Bakteri *Acinetobacter baumannii* adalah bakteri gram negatif yang dapat ditemukan di tanah, air dan kotoran bahkan ada beberapa bukti mengatakan bahwa bakteri ini menjadi organisme terisolasi dari lingkungan rumah sakit dan pasien yang mendapat perawatan inap (Fournier & Richet, 2006). Bakteri ini sering ditemukan pada kulit, sistem respirasi dan saluran kemih pada pasien inap. Sifat patogen yang ditimbulkan bakteri ini dapat berupa pneumonia, bacteremia, endocarditis, infeksi kulit maupun jaringan ikat yang disebabkan oleh peralatan medis yang terkontaminasi atau kontak dengan petugas medis yang terekspos dengan pasien yang menderita. Dari laporan yang

tercatat, pasien yang terinfeksi bakteri ini menunjukkan tingkat mortality sebesar 30% (Perez et al., 2007)

Bakteri *Acinetobacter sp* mempunyai kemampuan membentuk biofilm yang bagus dan banyaknya penyebaran infeksi nosokomial akibat bakteri *Acinetobacter baumannii* di dalam fasilitas dan lingkungan rumah sakit yang sulit dikendalikan menyebabkan munculnya organisme yang resisten dengan obat antibakteri yang termasuk dalam spektrum luas, *Multi drug-resistant (MDR)*.

Acinetobacter sp. (Perez et al., 2007) termasuk antibakteri golongan β -lactam, *cephalosporin* golongan pertama dan kedua (Manchanda, Sanchaita & Singh, 2010). Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), bakteri *Acinetobacter baumannii* memberi dampak yang memprihatinkan dalam menyebabkan penyakit infeksi nosokomial dan penyakit komunitas (*community-acquired infection*).

Masalah dalam resistensi terhadap antibakteri merupakan masalah terbesar ketiga di dunia kesehatan (Howard et al., 2012)

Karena sedikitnya obat antibakteri sintetis yang baru untuk mengobati infeksi MDR gram negatif, sedangkan pada saat yang sama belum ada obat yang potensial untuk menangani infeksi *Acinetobacter bamaunnii* terlebih pada MDR. Dari kasus infeksi bakteri tersebut maka diperlukan salah satu jalan keluar dengan pengobatan alternatif herbal.

Salah satu pengobatan alternatif menggunakan tanaman herbal yang mudah ditemui di Asia, terutama Asia Tenggara, dan salah satu dari tanaman tersebut adalah jahe. Oleh masyarakat, jahe sering dan sudah lama digunakan untuk pengobatan tradisional karena memiliki banyak khasiat. Jahe memiliki banyak jenis dan yang sering ditemui adalah jahe emprit, jahe gajah dan jahe merah. Menurut Ketua Asosiasi Petani Jahe Organik, Astajo, volume permintaan

dunia untuk jahe gajah dari Indonesia bisa mencapai 20 ton per minggu, sementara jahe emprit sebanyak 10 ton dan jahe merah 4 ton per minggu. Jahe emprit dan jahe merah lebih banyak digunakan sebagai bahan baku untuk industri di dalam negeri, seperti industri makanan dan minuman, jamu, dan farmasi (Zamroni Salin & Emawati Munadi, 2017)

Manfaat jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) memiliki zat gingerol yang memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimutagenik, antitumor dan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Kim et al., 2005).. Hal ini dibuktikan oleh Mazrieh et al., (2016) dimana ekstrak jahe sendiri menunjukkan adanya daya antibakteri dan hambat pembentukan biofilm oleh bakteri *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus cerues*, *Candida albicans* dan *Candida krusei*. Pada penelitian sebelumnya oleh Kartika Indah dan teman-temannya (2013) melakukan berbagai macam ekstrak jahe terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escheria coli*, dan *Candida albican*, jahe merah memiliki potensi terbesar dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang digunakan, begitu pula pada penelitian Ida Indrawati dan teman-temannya (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari jahe emprit, jahe gajah dan jahe merah memiliki potensi yang berbeda terhadap bakteri penyebab acne, *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* dan jahe merah memiliki hasil yang efektif seperti perlakuan sebelumnya oleh Masniari (2011), dari ketiga jenis jahe, jahe merah memiliki efektifitas terhadap kontrol *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus agalactiae*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Raharjo (2014), ekstrak etanol rimpang jahe merah juga memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro*.

Dari penelitian-penelitian yang sudah terlebih dahulu dilakukan, penulis tertarik untuk melakukan uji efektivitas ekstrak etanol rimpang jahe merah terhadap pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*, karena belum ada penelitian sebelumnya

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* secara *in vitro*

1.3.2 Tujuan Khusus

- Mengetahui kadar hambat minimal (KHM) ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) terhadap *Acinetobacter baumannii*
- Mengetahui kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) terhadap *Acinetobacter baumannii*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat menambah ilmu pengetahuan mengenai efek ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Acinetobacter Baumannii*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memanfaatkan ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) sebagai pengobatan alternatif infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Acinetobacter baumannii* dan dapat membantu peningkatan konsumsi jahe merah di pasaran



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter spp secara alamiah dapat dijumpai di lingkungan, tanah, air dan kotoran yang tumbuh dengan berbagai suhu dan pH untuk berkembang (Simor et al., 2002), bakteri ini merupakan organisme hydrophilid dan lebih membentuk kolonisasi yang lembab dan tercatat hidup di lingkungan rumah sakit, pembentukan ini tidak diketahui secara jelas. Organisme ini bisa bertahan dalam periode lama di permukaan kering bahkan lebih lama dari *Staphylococcus aureus* (Ahmed et al., 1998) maupun basah, hal ini yang menyebabkan luasnya kondisi perkembangan *Acinetobacter spp* (Montefour et al., 2008). *Acinetobacter baumannii* merupakan bakteri penyebab infeksi nosokomial terbesar dari *Acinetobacter spp* yang jarang ditemukan di permukaan kulit manusia (0.5 dan 3%) dan pada feses manusia (0.8%) (Dijkshoorn, L. et al, 2005) Bakteri ini menyebabkan infeksi nosokomial, infeksi yang disebabkan oleh peralatan kesehatan, seperti infeksi pada saluran kemih, meningitis, bakteremia dan pneumonia. Retensi antimikroba merupakan penghambat utama dalam pengobatan dengan golongan carbapenem (Maragakis & Perl, 2008).

Faktor resiko selain penggunaan ventilator adalah menginap dan lama waktu di ICU, keparahan penyakit, oprasi, dan dilakukannya prosedur yang invasif (Falagas, M.E. et al., 2007). Kondisi habitat organisme ini dapat ditemukan didalam rumah sakit menyebabkan peningkatan resistensi obat antibiotik. *Acinetobacter baumannii* juga memiliki kemampuan untuk membuat

biofilm yang berperan dalam proses kolonisasi (Rodriguez-Bano, Jesus et al., 2008). Biofilm merupakan agregasi mikroorganisme dimana sel melekat satu sama lain atau pada permukaan berupa matriks yang dibentuk sendiri. Biofilm membuat bakteri resisten terhadap gaya fisik yang dapat melepas sel yang tidak menempel, fagositosis oleh sel-sel sistem imun tubuh dan penetrasi dari senyawa beracun seperti antibiotik (Madigan et al, 2017)

2.1.1a Taksonomi

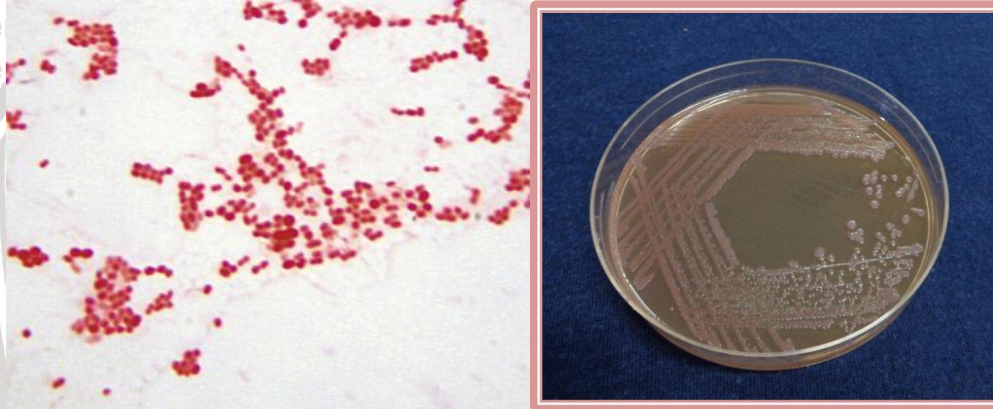
Acinetobacter baumannii merupakan organisme yang diklasifikasikan sebagai berikut (Jung & Park, 2015)

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Class	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	: <i>Pseudomonadales</i>
Famili	: <i>Moraxellaceae</i>
Genus	: <i>Acinetobacter</i>
Spescies	: <i>Acinetobacter baumannii</i>

2.1.2 Identifikasi dan Morfologi

Acinetobacter baumannii adalah bakteri gram negatif, oksidase negatif, katalase positif, nonmotile, nonfermenting coccobacilli. Mereka berbentuk pendek, montok, batang gram negatif yang sulit untuk diwarnai dan memiliki kemungkinan untuk salah identifikasi dengan gram negatif maupun gram positif kokus. *Acinetobacter baumannii* yang berasal dari manusia dapat berkembang bagus pada media padat yang digunakan di laboratorium mikrobiologi, seperti blood agar atau tryptic soy agar, pada inkubasi dengan suhu 37°C. Organisme ini membentuk lapisan lembut dan terkadang mukoid, koloni putih keabu-abuan,

koloni *Acinetobacter baumannii* kompleks menyerupai *Enterobacteriaceae*, dengan ukuran diameter koloni 1,5-3 mm setelah kultur 24 jam. Beberapa spesies *Acinetobacter* selain *Acinetobacter baumannii* ada kemungkinan tidak dapat berkembang pada media *McConkey agar* dengan warna pucat. Karena sifat bakteri ini aerob yang tidak menghasilkan warna ungu pada reaksi dengan 1% *tetramethyl p-phenylenediamine*, ini dapat membedakan *Acinetobacter* dengan *Neisseria*, selain ini bakteri ini mereduksi nitrat dan gelembung oksigen saat bereaksi dengan H_2O_2 (Peleg, Seifert & Paterson, 2008)



Gambar 2.1 Identifikasi *Acinetobacter* : A). *Acinetobacter baumannii* dengan pewarnaan gram, B). *Acinetobacter baumannii* hasil penanaman pada agar *MacConkey* (Sumber : Steven et al., 2014; Mushtak & Ahmed, 2013)

2.1.3 Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis tersering akibat infeksi dari *Acinetobacter baumannii* adalah pneumonia nosokomial dan bacteremia. Pneumonia nosokomial terjadi dari hasil infeksi melalui sistem pernapasan, adanya *endotracheal tube* menciptakan transmisi *Acinetobacter* yang sangat ideal dan dapat membuat biofilm pada tabung tersebut (Gil-Perotin et al., 2012). Droplet dari aspirasi *Acinetobacter* langsung turun menuju alveoli dari proses mekanik pasien yang menggunakan ventilasi tanpa harus melewati sistem imunitas pertama dari host.

Dari penelitian surveilans besari dari Amerika Serikat, antara 5 dan 10% kasus

pneumonia yang didapatkan di ICU adalah disebabkan *Acinetobacter baumannii* (Gaynes & Edwards., 2005). Namun, pada institusi tertentu didapatkan proporsi

pneumonia yang terjadi pada ICU karena *Acinetobacter baumannii* jauh lebih tinggi, terutama pada pasien ICU tetap (Garnacho-Montero et al., 2005)

Bacteremia atau infeksi dalam saluran pembuluh darah oleh *Acinetobacter baumannii* biasa terjadi karena penggunaan central venous catheter atau sekunder karena pneumonia ekstensif yang memfasilitasi penyebaran.

Manifestasi lain yang tercatat adalah infeksi pada saluran kemih yang biasa dikarenakan penggunaan urinary catheter atau percutaneous nephrostomy tube, infeksi pada luka maupun osteomyelitis yang biasa karena luka setelah tindakan bedah, endocarditis, dan meningitis yang disebabkan oleh setelah tindakan bedah atau adanya ventriculostomy (Sievert et al., 2010; dan Davis et al., 2005; Carvalho et al., 2011)

Community-acquired infections biasa terjadi di daerah hangat, lembab, dengan iklim tropis, seperti daerah Australia, Oceania, dan Asia termasuk China Taiwan dan Thailand (Falagas, M.E. et al., 2007) Penyakit ini biasanya terjadi pada saat musim hujan tiba diantara orang dengan riwayat alkoholism dan beberapa di ICU (Anstey, Currie & Withnall, 1992). Saluran pernapasan merupakan tempat paling mudah dijumpai koloni dari *Acinetobater baumannii* pada orang sehat, dan pada pasien trachestomy (Nugroho, 2012). Sebuah prevalensi menunjukkan adanya komorbiditas pada pasien seperti diabetes, penyakit pada ginjal, kanker, atau pernyakit obstruksi paru-paru kronik, dan terlebih pneumonia, perokok berat, dan pengguna alkohol. Onset dari infeksi komunitas disertai dengan adanya pneumonia akut dan beberapa contoh jarang

terjadi bersamaan dengan meningitis, cellulitis, atau bacteremia pertama (Falagas, M.E. et al., 2007)

Acinetobacter juga menyebabkan infeksi pada luka, soft tissue, luka infasif pada perajut di Afghanistan dan Iraq, terlebih pada luka trauma (Yun et al., 2008). Infeksi juga dapat terjadi pada korban trauma setelah bencana alam seperti banjir, gempa bumi, maupun mengamati area daerah konflik militer (Oncul et al., 2002)

2.1.4 Mekanisme Resistensi Antibiotik

Acinetobacter baumannii mempunyai kemampuan resistensi yang tinggi sebab adanya strain MDRA (*Multi Drug Resistance Acinetobacter*), resistensi yang telah dilaporkan adanya resistensi terhadap *carbapenem*, *colistin* dan *polimiksin B*, secara umum, bakteri ini tercatat pertama, kedua, dan generasi ketiga *sefalosporin*, *makrolid*, *penisilin* dan *anti-Acinetobacter* (Nugroho, 2012)

2.2 Jahe Merah (*Zingiber officinale var.rubrum*)

Jahe merah merupakan salah satu jenis dari keluarga tumbuhan berbunga (temu-temuan), *Zingiber officinale*. Tanaman ini sudah lama dikenal dan digunakan sebagai bumbu masak maupun pengobatan tradisional di beberapa negara di Asia (Gholib, 2008). Menurut Harmono dan Andoko (2005), Hernani dan Winarti (2012) jahe dibedakan menjadi 3 jenis berdasarkan ukuran, bentuk dan warna rimpangnya, yaitu :

- a) Jahe gajah/badak, rimpang lebih besar dan gemuk, ruas rimpang lebih menggembung dari kedua varietas lainnya. Jahe gajah memiliki kandungan pati (44,25%), minyak atsiri (2,5%) dan ekstrak yang larut dalam alkohol (5,81%).

b) Jahe/emprit, ruas kecil merata hingga sedikit menggebung. Jahe ini selalu dipanen setelah berumur tua. Kandungan minyak atsirinya lebih besar dari pada jahe gajah, sehingga rasanya lebih pedas, disamping seratnya tinggi. Jahe emprit memiliki kandungan pati (41,48%), minyak atsiri (3,5%) dan ekstrak yang larut dalam alkohol (7,29%).

c) Jahe merah, rimpangnya berwarna merah dan lebih kecil dari pada jahe gajah setara dengan ukuran jahe emprit, jahe merah selalu dipanen setelah tua, dan juga memiliki kandungan minyak atsiri yang sama dengan jahe kecil. Jahe merah memiliki kandungan pati (52,9%), minyak atsiri (3,9%) dan ekstrak yang larut dalam alkohol (9,93%).

2.2.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Tracheophyta
Class	: Lilipsida
Order	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Species	: Zingiber officinale
Variety	: Zingiber officinale var.rubrum (Backer & JR, 1968)

2.2.2 Morfologi

Tanaman jahe merah adalah tanaman berbatang semu dengan tinggi 30cm hingga 1 meter tegak, tidak bercabang, dan warna pangkal batang kemerahan. Akar jahe berbentuk bulat, ramping, berserat, berwarna putih hingga coklat terang. Bunga dari tanaman jahe majemuk muncul di permukaan tanah berbentuk tongkat atau bulat telur yang sempit dan sangat tajam (Wardana et al.,

2002). Daun dari tanaman ini berbentuk lancip dengan panjang 5-25cm dan lebar 10-25cm. Tanaman jahe merah membentuk rimpang kecil, ramping, kurang mengandung air, berwarna merah atau jingga dengan rasa pedas. Rimpang jahe merah berukuran kecil dan berlapis-lapis, berdiameter 4,2-4,3 cm dan tinggi 5,2-10,40 cm, sedangkan panjang rimpang sekitar 12,39 cm dan bobot antara 0,5-0,7 kg/rumpun (Setiawan, 2015) Pada umumnya, jahe merah dipasarkan dalam bentuk rimpang segar dan jahe kering (Lukito, 2007)



Gambar 2.2. Morfologi Tanaman Jahe Merah : A). Tanaman jahe merah, B). Rimpang jahe merah (Sumber : Lukito, 2007)

2.2.3 Persebaran dan Perkembangan Jahe Merah

Rimpang jahe merah banyak tumbuh dan berkembang dinegara Asia, seperti India dan China, kini persebarannya mencapai wilayah tropis dan subtropis, seperti Indonesia, dan hanya bisa tumbuh di perkebunan dan tidak didapatkan di alam liar (Purseglove et al., 1981). Di India, jahe digunakan sebagai stimulan, contraceptive, aphrodisiacs, abortion, hypoglycemic agents, hypolipidemic agentc, tonics, carminative, dan pereda nyeri perut. Jahe yang masih segar digunakan sebagai pengobatan flu, arthritis, pneumonia, infertility,

infeksi cacing, sakit gigi, tuberculosis, muntah-muntang, batuk, asthma, bronchitis, serak, diare, sakit kepala, luka infeksi dan malaria (Quattrocchi, 2012).

2.2.4 Manfaat Jahe Merah

Pada umumnya ekstrak dari jahe memiliki manfaat medis termasuk antimikroba, dimana menghambat pertumbuhan bakteri dengan dosis tertentu.

Hasil ini dapat ditunjukkan dengan n-hezane, ethyl acetate dan soxhlet dari ekstrak rimpang jahe dapat mengobati infeksi bakteri, dycpepsia, colic, common cold, digestive disordes, hypercholesterolemia, penyakit jantung, pengakit paru-paru, dan analgesic dari nyeri arthritis (Malu et al.,2009).

Jahe merah juga memiliki berbagai manfaat lain oleh karena kandungannya sebagai obat analgesik, antiagregat, antianemia, antibronkitik, antidepresan, antiemetik, antihistamin, antimetaplastik, anti neoplasma, antioksidan, anriseratogenik, askarisid, hepatoprotektif, inotropik, kronotropik negatif, fungisid, parfum, sedatif, lipooksigenase inhibitor, proteolitik, nematisid, siklooksigenase inhibitor, lipolitik, insektisid, dan gram(-)sid (Zahra, Manijeh & Maryam., 2009)

Berdasarkan beberapa penelitian, jahe dapat meningkatkan pelepasan hormon adrenalin dan memiliki efek vasodilator menyebabkan tekanan darah menjadi turun. Komponen utama yang bersifat antikoagulan adalah gingerol. Gingerol sendiri diperkirakan dapat membantu menurunkan kadar kolesterol, dan jahe dapat menghambat serotonin yang menyebabkan kontraksi perut dan mual (Bode & Dong., 2011)

Ekstrak jahe merah jika diminum dalam dosis rendah menunjukkan efek analgesik dan antiinflamasi yang cukup efektif dan dapat mencegah mabuk laut termasuk vertigo yang bergubungan dengan mabuk laut (Grontved & Hentzer,

2013). Penelitian oleh Dr. Francesca dan rekan-rekannya mengulas beberapa literatur medis, dan mengemukakan enam penelitian yang menguji efek jahe pada wanita hamil, dimana jahe berfungsi lebih baik dari plasebo atau vitamin B6 dan dianggap aman untuk wanita hamil. Mengonsumsi jahe dapat merangsang pengeluaran air liur dan memperlancar cairan pencernaan (Rahingtyas, 2008).

2.2.5 Jahe Merah Sebagai Antimikroba

Senyawa antimikroba merupakan senyawa yang dapat membunuh maupun menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara bakterisidal maupun bakteristatik (Madingan et al., 2017). Jahe pada umumnya mengandung senyawa antimikroba golongan fenol, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Nursal, 2006). Jahe merah memiliki kandungan antimikroba kuat dan bahkan dapat digunakan sebagai antifungal karena kandungan dari gingerol, dan shogaol yang merupakan senyawa turunan fenol, paradol yang merupakan hasil hidrogenasi dari shogaol (Bhattarai, Tran & Duke., 2001) ,dan zingerone (Malu et al., 2009; Rahmani, Shabrmi & Aly et al., 2014). gingenol shogaols, merupakan isolasi dari rhizoma jahe, dan menunjukkan ada aktifitas antivirus. Dalam studi in vitro menunjukkan jahe menghambat pembelahan diri pada bakteri gastroenteric termasuk salah satunya *Helicobacter pylori*. Semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak yang digunakan, semakin luas diameter dari inhibisi pertumbuhan bakteri yang didapat (Poeloengan, 2011).

Gingerol dilaporkan bekerja aktif dalam menghambat pertumbuhan *Mycobacterium avium* dan *tuberculosis in vitro* (Semwal et al., 2015; Mishra, Kumar & Kumar., 2012). Dalam penelitian lain juga menunjukkan adanya efek antimikroba dari ekstrak *ethanol* pada *E.coli*, *Salmonella typhi*, dan *Bacillus subtilis*.

Walau sedikit diketahui mengenai mekanisme atau metabolisme dari antimikroba dari jahe merah, bahan-bahan aktif memiliki potensi untuk menyebabkan distegrasi dari dinding bakteri yang memungkinkan dapat menghambat dari proses resistensi terhadap pathogen. (Semwal et al., 2015)

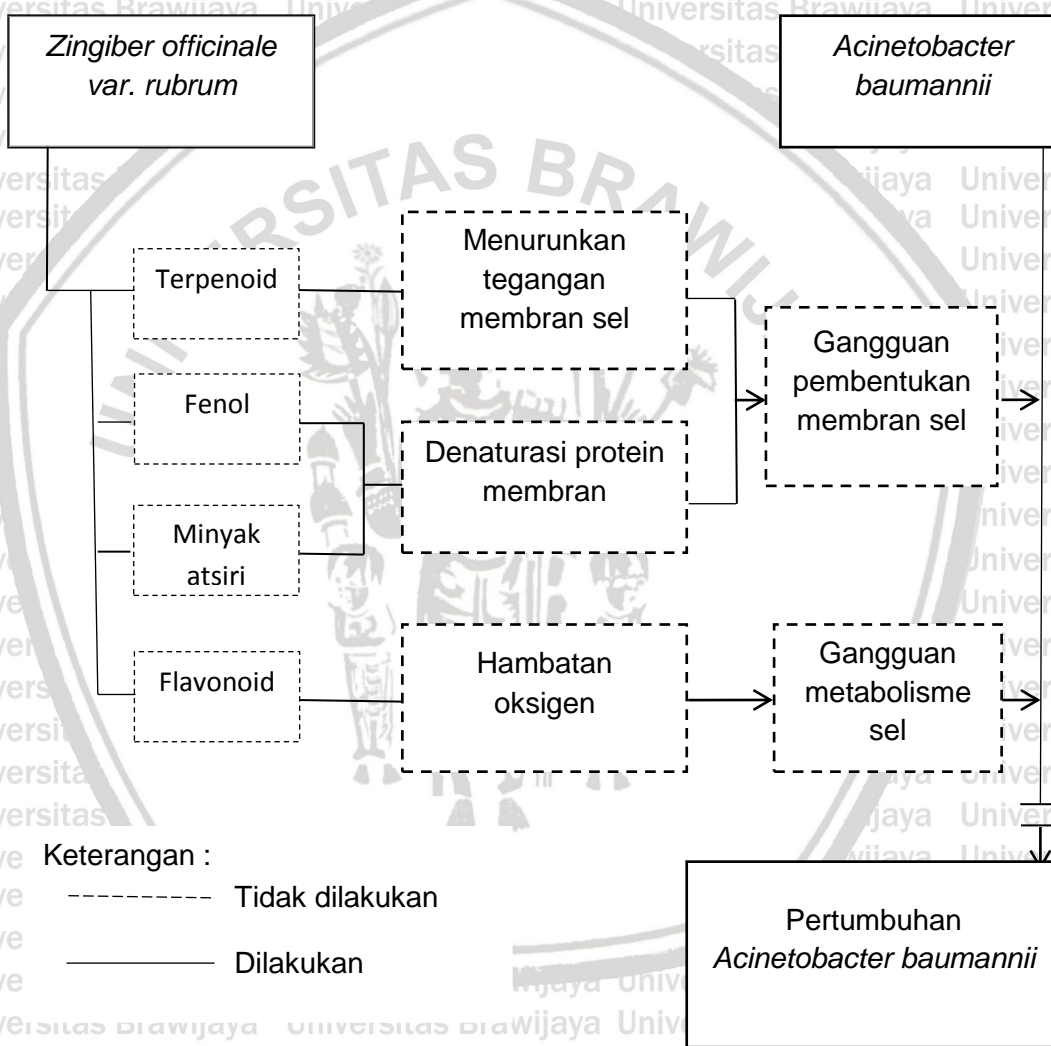
2.2.6 Efek Jahe Merah Terhadap Bakteri *Acinetobacter spp*

Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) telah diketahui sering digunakan untuk antimikroba karena mengandung senyawa fenol (*gingerol*, dan *shogaol*), *flavonoid*, *terpenoid*, dan minyak atsiri. (Pandiangan, 2012; Malu SP et al., 2009). Jahe pada umumnya mengandung senyawa antimikroba golongan fenol, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Nursal, 2006). Kandungan semua jahe sama namun berbeda dalam komposisinya. Dalam penelitian Hui-Min Wang dan teman-temannya (2010) ditemukan bahwa kandungan antibakteri dari jahe pada umumnya dapat bekerja secara antioksidan yaitu dengan cara dihibisi oleh MnO_2 dapat bekerja sebagai antibakteri *Acinetobacter baumannii*.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



5.2 Keterangan Kerangka Konsep

Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) telah diketahui sering digunakan untuk antimikroba karena mengandung senyawa *fenol* (*gingerol*, dan *shogaol*), *flavonoid*, *terpenoid*, dan minyak atsiri. Senyawa *fenol* diketahui dapat mendenaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan sel, sehingga dapat merusak membran sel bakteri. Hal ini akan menyebabkan senyawa fenolik masuk ke dalam sel dan menyebabkan kebocoran membran.

Lebih lanjut, metabolit esensial yang dibutuhkan bakteri akan keluar dari sel sehingga bakteri akan mati (Pandiangan, 2012; Malu SP et al., 2009). Senyawa *polifenol* juga dapat menghambat kerja enzim thiolase yang dibutuhkan dalam proses oksidasi gugus sulfhidril. Proses oksidasi gugus sulfhidril berperan penting dalam pembentukan ikatan disulfida pada struktur sekunder protein. Tidak terbentuknya ikatan disulfida mengakibatkan struktur sekunder protein rusak, sehingga terjadi denaturasi protein bakteri (Sari, Periadnadi & Nasir, 2013).

Flavonoid bekerja dalam tiga hal yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Hendra R et al., 2011) Mekanisme kerja dalam sintesis asam nukleat berupa menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA sehingga terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi *flavonoid* dengan bakteri(Cushnie, T & Lamb, 2005). *Flavonoid* juga membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa interselulerdisisi lain, senyawa ini dapat menghambat metabolisme bakteri dengan menghambat penggunaan oksigen (Cushnie, T &

Lamb, 2005). Senyawa *Terpenoid* bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang sangat kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin, dengan rusaknya porin sebagai pintu keluar masuknya senyawa, akan mengurangi permeabilitas dinding bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999). Sedangkan minyak atsiri bekerja menghambat atau mematikan pertumbuhan mikroba dengan mengganggu proses terbentuknya dinding sel (Ajizah, 2004)

Berdasarkan uraian diatas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*

7.3 Hipotesis Penelitian

Didapatkan pengaruh antibakteri ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* secara *in vitro*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental secara *in vitro* secara *post test control group design* untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii*.

4.2 Populasi dan Sampel

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa bakteri *Acinetobacter baumannii* di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan strain resistensi terhadap Ampicillin, Cefazolin, Aztreonam, dan Nitrofurantoin. Pada penelitian ini digunakan tujuh macam konsentrasi ekstrak rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) yang berbeda enam konsentrasi dan satu kontrol bakteri. Jumlah pengulangan yang dilakukan dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r-4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

Keterangan t = banyak perlakuan

r = jumlah replikasi

Berdasarkan rumusan diatas, maka dalam penelitian ini diperlukan minimum empat hingga 5 kali pengulangan. Peneliti membuat menjadi lima kali pengulangan untuk mendapatkan hasil yang lebih tepat.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) dengan berbagai konsentrasi yang didapatkan melalui penelitian pendahuluan dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol bakteri.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah *Acinetobacter baumannii* yang diamati dari kekeruhan hasil inkubasi tabung reaksi dan ditanamkan pada media padat, *nutrient agar* (NAP).

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang yang dilakukan pada Januari tahun 2019

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan dan Alat Pembuatan Ekstrak *Ethanol* Rimpang Jahe Merah

Alat yang digunakan berupa botol, *rotary evaporator*, toples tertutup, gelas ukur, *beaker glass*, *shaker* digital, erlenmeyer, gelas corong, dan timbangan analisis. Bahan yang digunakan berupa rimpang jahe merah, aquades, dan enatol 96%.

4.5.2 Bahan dan Alat Identifikasi Bakteri *Acinetobacter baumannii*

Alat yang digunakan berupa api bunsen, korek api, inkubator, ose, kertas hisap atau tissue, mikroskop, VITEK-2, *object glass*, cawan petri, oksidase *strip*, dan kertas hitam. Bahan yang digunakan berupa biakan murni *Acinetobacter baumannii*, bahan pewarnaan gram (kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin, dan aquades), minyak emersi, medium *MacConkey*, aquades, dan larutan H₂O₂.

4.5.3 Bahan dan Alat Uji Dilusi Tabung

Alat yang digunakan berupa tabung reaksi, rak, inkubator, ose, pipet mikro, *blue & yellow tip*, *spektrofotometri*, botol reagen, *vortex*, api bunsen, cawan petri dan *colony counter*. Bahan yang digunakan berupa biakan murni *Acinetobacter baumannii*, ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah, *nutrient agar*, dan *nutrient broth*.

4.6 Definisi Operasional

- a) Ekstrak yang akan digunakan adalah ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) yang diperoleh dari rimpang jahe merah yang telah dikeringkan dari Materia Medika Batu, kemudian dihaluskan, direndam dengan *ethanol* 96%, diaduk, didiamkan (metode maserasi) dan diambil filtratnya dengan penyaringan yang kemudian dipekatkan dengan rotary vacuum evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak diperoleh dan diproses di Universitas Politeknik Negri Malang.
- b) Bakteri *Acinetobacter baumannii* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk kokobasil, memiliki sifat obligat aerobik, non-motile, positif katalase, negatif oksidase, dan tidak memfermentasikan laktosa. Bakteri tersebut dilakukan reidentifikasi dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas

Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang dan didapatkan dari sputum pasien Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar, Malang.

- c) Uji efektivitas antibakteri dilakukan secara In Vitro, yaitu prosedur perlakuan yang diberikan dalam lingkungan terkendali di luar organisme hidup. Metode yang digunakan adalah dilusi tabung dan dilusi agar. Menggunakan satu seri tabung reaksi dan sejumlah sel mikroba yang diuji kemudian masing-masing tabung diisi dengan ekstrak yang telah diencerkan secara serial, selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Biakan dari semua tabung jernih diinokulasi pada agar padat, diinkubasi dan diamati ada tidaknya koloni yang tumbuh.
- d) Kadar Hambat Minimum (KHM) metode dilusi tabung adalah konsentrasi antibakteri ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah terendah yang mampu menghambat bakteri *Acinetobacter baumannii*, ditandai dengan hasil biakan tampak jernih, setelah inkubasi 19-24 jam dan dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif.
- e) Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah yang mampu membunuh bakteri, ditandai dengan jumlah koloni bakteri pada medium NAP yang telah dilakukan penggoresan dengan satu ose larutan ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah yang telah diberi bakteri uji dan diinkubasi selama 18-24jam kurang dari 0,1% OI. Perhitungan jumlah koloni menggunakan *colony counter*
- f) *Original Inoculum* (OI) adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL yang kemudian sebelum diinkubasi di-*striking* pada media agar padat dan digunakan untuk mencari nilai KBM.

- g) Kontrol bahan adalah ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah murni dan tidak dicampur dengan bakteri *Acinetobacter baumannii*. Kontrol bahan digunakan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril
- h) Kontrol bakteri adalah biakan bakteri *Acinetobacter baumannii* murni yang tidak ditambahkan larutan ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah. Kontrol bakteri digunakan untuk mengetahui apakah bakteri yang digunakan terkontaminasi dengan bakteri lain.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan :

- Mencuci semua alat dengan sabun hingga bersih dan dibiarkan hingga kering
- Alat-alat yang bisa disterilisasi dalam autoklaf dibungkus dengan kertas roti dan dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 atm selama 15 menit. Sedangkan alat-alat yang tidak bisa dengan autoklaf, disterilkan dengan alkohol 70%

4.7.2 Pembuatan Ekstrak *Ethanol* Rimpang Jahe Merah

Ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) diperoleh dengan :

- Rimpang jahe merah kering dihaluskan dengan blender
- Rimpang jahe merah ditimbang dan diambil sebanyak 500g.
- Rimpang jahe merah dimasukkan dalam tabung erlenmeyer
- Kemudian masukan larutan *ethanol* 96% sampai 1500mL.

- e) Tutup tabung erlenmeyer dengan rapat lalu kocok sampai homogen. Pengocokkan dilakukan 1-2jam, lalu disimpan pada suhu kamar selama 24 jam.
- f) Setelah 24 jam penyimpanan, campuran disaring dengan kertas filter hingga diperoleh cairan yang bebas dari partikel kasar
- g) Kemudian hasil saringan rimpang jahe merah ditambahkan kembali *ethanol* 96% sebanyak 1000mL.
- h) Tutup tabung erlenmeyer kembali dengan rapat lalu kocok sampai homogen. Pengocokkan dilakukan 1-2jam, lalu disimpan pada suhu kamar selama 24 jam.
- i) Setelah 24 jam penyimpanan, campuran disaring dengan kertas filter hingga diperoleh cairan yang bebas dari partikel kasar
- j) Hasil selanjutnya dievaporasi untuk memisahkan pelarut *ethanol* dengan ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah menggunakan rotary evaporator pada temperatur 60°C (sesuai titik didih *ethanol*) hingga semua pelarut terpisah dan didapatkan cairan ekstrak yang kental dengan konsentrasi 100% selama 2 jam
- k) Hasil akhir nilai yang akan digunakan dalam percobaan yaitu ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah konsentrasi 100% yang telah dipisahkan dengan pelarut *ethanol*.

4.7.3 Identifikasi Bakteri *Acinetobacter baumannii*

4.7.3.1 Pewarnaan Gram

Prosedur pengecatan gram:

- a) Satu ose akuades steril diteteskan pada object glass, kemudian diambil sedikit bakteri untuk disuspensikan dengan akuades yang telah diteteskan di atas object glass dan dibiarkan kering di udara
- b) Suspensi bakteri yang telah kering difiksasi dengan pemanasan
- c) Sediaan ditetesi dengan kristal violet dan ditunggu selama satu menit. Setelah itu, kristal violet dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan. Jangan sampai membeku.
- d) Sediaan ditetesi dengan lugol dan ditunggu selama satu menit, lalu lugol dibuang dan dibilas dengan air. Jangan sampai membeku.
- e) Sediaan ditetesi dengan alkohol 96% dan ditunggu 10-30 detik, kemudian alkohol dibuang dan dibilas dengan air. Jangan sampai membeku
- f) Sediaan ditetesi dengan safranin dan ditunggu selama 10-30 detik, kemudian safranin dibuang dan dibilas dengan air
- g) Biarkan mengering, lalu dilihat dibawah mikroskop
- h) Hasil menunjukkan *Acinetobacter baumannii* merupakan bakteri Gram negatif

4.7.3.2 Penanaman pada *MacConkey*

Metode penanaman :

- a) Spesimen ditanam pada Nutrient Broth, kemudian diinkubasi selama 18-24jam pada suhu 37°C

b) Bakteri *Acinetobacter baumannii* dibiakkan di Nutrient broth, kemudian diambil satu ose dan ditanam pada medium MacConkey dengan sara streaking untuk mendapatkan koloni terpisah. Bakteri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C

c) *Acinetobacter baumannii* tidak memfermentasikan laktosa, sehingga akan tampak koloni berwarna pucat pada medium

4.7.3.3 Tes Katalase

Tes katalase yang dilakukan adalah :

- Ose dipanaskan, lalu dibiarkan dingin
- Gelas objek disiapkan dan ditetesi dengan akuades steril
- Koloni bakteri diambil menggunakan ose, dicampur dengan akuades yang telah ditetesi sebelumnya diatas gelas objek
- Larutan H₂O₂ ditetaskan secukupnya
- Diamati apakah ada gelembung yang dihasilkan atau tidak
- Hasil tes katalase pada bakteri *Acinetobacter baumannii* didapatkan gelembung diatas gelas objek yang bernilai positif.

4.7.3.4 Tes Oksidase

Bakteri *Acinetobacter baumannii* yang sudah diisolasi diambil satu ose dan dioleskan pada selembur kertas kertas oksidase. Lalu diamati perubahan warna pada kultur bakteri. Pada bakteri *Acinetobacter baumannii* tidak didapatkan perubahan warna pada goresan pada kertas oksidase

4.7.3.5 VITEK-2

VITEK-2 merupakan alat analisis mikrobiologi generasi baru dari Biomerieux yang prinsipnya berdasarkan metode *flourescent*. Metode ini mampu mengidentifikasi bakteri dalam rentang yang luas. Identifikasi bakteri memakai

metode kolorimetri, dengan menilai reaksi biokimia, pemakaian karbon pada substrat dan aktivitas enzim

4.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri *Acinetobacter baumannii*

- a) Bila sudah dipastikan bakteri adalah *Acinetobacter baumannii*, bakteri tersebut dipindahkan ke dalam tabung yang berisi Nutrient broth.
- b) Tabung reaksi tersebut lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24jam, kemudian pembedahan bakteri dinilai absorbansinya dengan spektrofotometer pada gelombang cahaya 625nm
- c) Jumlah bakteri pada perbenihan cair dapat diperkirakan dari nilai absorbansi dengan kalibrasi yang sudah diketahui, yaitu absorbansi 0,1 yang ekuivalen dengan jumlah bakteri sebesar 10⁸ CFU/mL
- d) Untuk mendapatkan konsentrasi sebesar (sesuai standar McFarland 0,5), maka dilakukan perhitungan sebagai berikut

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

Keterangan

N₁ = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V₁ = Volume bakteri yang akan ditambahkan pengencer

N₂ = Optimal Density (0,1 setara dengan 10⁸ CFU/mL)

V₂ = Volume suspensi bakteri uji (10mL)

- e) Untuk mendapatkan suspensi 1x10⁶ CFU/mL dilakukan pengenceran 10⁸ CFU/mL sebanyak 100 kali.

4.7.5 Pembuatan *Original Inoculum*

Inokulum bakteri dengan konsentrasi 1x10⁶ CFU/mL yang diinokulasikan pada media agar padat sebelum diinkubasi dan digunakan untuk mencari kategori KBM. Biakan bakteri yang telah memenuhi standar *McFarland* 0.5.

diinokulasi pada media NAP sebanyak satu ose yang telah dikalibrasi. Inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24jam.

4.7.6 Uji Antibakteri Ekstrak *Ethanol* Rimpang Jahe Merah Terhadap Bakteri *Acinetobacter baumannii* Secara Dilusi Tabung

4.7.6.1 Uji Pendahuluan Dilusi Tabung

- a) Isolat *Acinetobacter baumannii* yang sudah diuji identifikasi, distandarisasi dengan menggunakan standart *McFarland* 0,5 pada Nutrient broth
- b) Disiapkan 8 tabung reaksi steril untuk 6 tabung sebagai uji bakteri, 1 tabung kontrol bakteri (KK), dan 1 tabung kontrol bahan (KB). Tabung diberitanda 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625% dan 0%
- c) Siapkan benih bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan konsentrasi 1×10^6 CFU/mL
- d) Masukkan 1mL akuades pada tabung kedua hingga kedelapan
- e) Tabung pertama dan kedua dimasukan 1mL ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah yang sudah diencerkan dengan DMSO 1% dan di ambil 1mL dari tabung kedua yang dihomogenkan kedalam tabung reaksi berikutnya, begitu pula untuk tabung ketiga hingga ketujuh.
- f) Masukkan 1mL dari suspensi *Acinetobacter baumannii* kedalam masing-masing tabung
- g) Setiap tabung di vortex hingga homogen
- h) Tabung dimasukan kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam

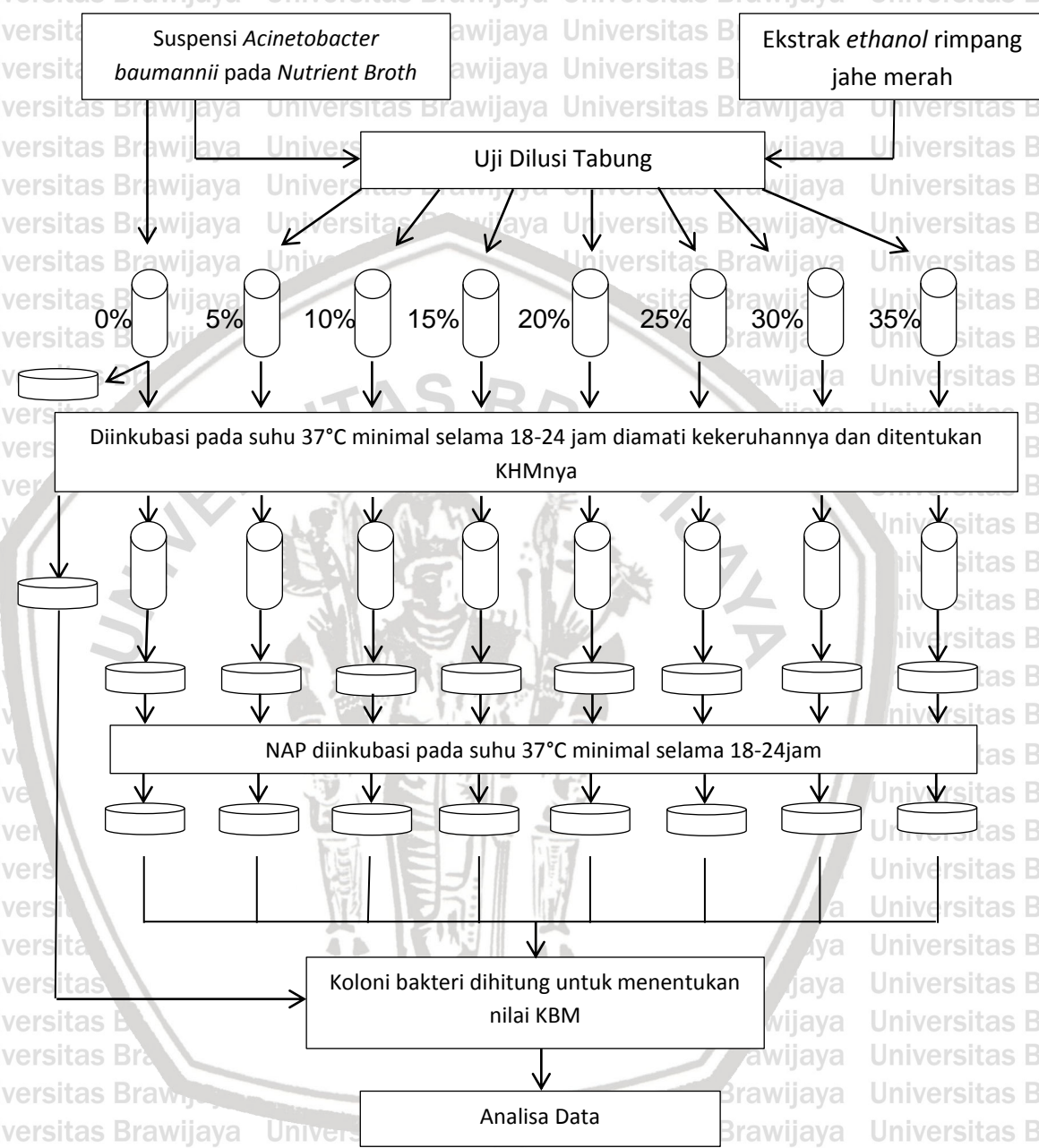
4.7.6.2 Uji Dilusi Tabung Menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM)

- a) Isolat *Acinetobacter baumannii* yang sudah diuji identifikasi, distandarisasi dengan menggunakan standart *McFarland* 0,5 pada Nutrient broth
- b) Disiapkan 8 tabung reaksi steril untuk 7 tabung sebagai uji bakteri, dan 1 tabung kontrol bakteri (KK)
- c) Siapkan benih bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan konsentrasi 1×10^6 CFU/mL
- d) Masukkan ekstrak jahe merah dengan masing-masing konsentrasi dengan pengenceran 1% DMSO dan aquades
- e) Masukkan 1mL dari suspensi *Acinetobacter baumannii* kedalam masing-masing tabung
- f) Setiap tabung di vortex hingga homogen
- g) Tabung dimasukan kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
- h) Hasil diamati dengan kertas bergaris untuk mengamati kejernihan untuk mendapatkan hasil Kadar Hambat Minimal

4.7.6.3 Uji Dilusi Tabung Menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM)

- a) Hasil dari hasil KHM dengan konsentrasi yang sudah ditentukan
- b) Kemudian dari masing-masing tabung dilusi diambil 10ose (10 μ l) kemudian digoreskan pada NAP dan diinkubasi 18-24 jam pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$
- c) Pada hari ketiga didapatkan data KBM dan dilakukan pengamatan kuantitatif pada masing-masing konsentrasi dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada NAP dengan perhitungan satu sel bakteri hidup pada media padat akan tumbuh menjadi 1 koloni bakteri atau jumlah koloninya kurang dari 0.1% jumlah koloni di Oi

4.7.6.4 Kerangka Operasional



4.8 Analisis Data

Dilakukan penentuan KHM yang ditandai dengan konsentrasi terendah dimana tidak didapatkan kekeruhan pada tabung (sesuai kontrol negatif).

Penentuan KBM didasarkan pada pertumbuhan jumlah koloni bakteri di NAP yang ditandai dengan konsentrasi terendah dimana koloni bakteri yang tumbuh <0,1% dari *original inoculum*. Data kuantitatif (KBM) didapatkan dengan menghitung jumlah koloni bakteri pada media NAP dengan menggunakan *colony counter*. Uji statistik yang digunakan untuk data kuantitatif adalah :

a) Uji normalitas data

Bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran normal atau tidak. Karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis tergantung dari normal tidaknya distribusi data. Untuk penyajian data yang terdistribusi normal, maka digunakan *mean* dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Sedangkan untuk penyajian data yang tidak terdistribusi normal digunakan *median* dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Untuk uji hipotesis, jika sebaran data normal, maka digunakan uji parametrik. Sedangkan jika sebaran data tidak normal digunakan uji non parametrik

b) Uji homogenitas varian

Bertujuan untuk menguji berlaku atau tidaknya asumsi ANOVA, yaitu apakah data yang didapatkan dari setiap perlakuan memiliki varian yang homogen. Jika didapatkan varian yang homogen, maka analisa dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA dilanjutkan uji pos hoc. Tetapi jika varian

tidak homogen, dan tidak normal, maka dilakukan uji Kruskal Wallis, dengan uji Mann Whitney sebagai uji pos hoc

c) Uji kolerasi dan Uji Regresi

Uji korelasi bertujuan untuk membuktikan hubungan antara konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah terhadap rata-rata jumlah kolon. Jika data normal dan homogen digunakan uji pearson, jika tidak terpenuhi, digunakan uji spearman. Uji regresi bertujuan untuk mengetahui pengaruh variabel independen terhadap variabel dependen setelah diketahui ada hubungan antara variabel tersebut.



BAB 5**HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA****5.1 Hasil Penelitian****5.1.1 Hasil Ekstrak *Ethanol* Rimpang Jahe Merah**

Pembuatan ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah dilakukan di Teknik Kimia, Politeknik Negri Malang. Hasil dari ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah berwarna coklat kemerahan berupa larutan. Ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah mengandung senyawa fenol, flavonoid, terpenoid dan minyak astiri.

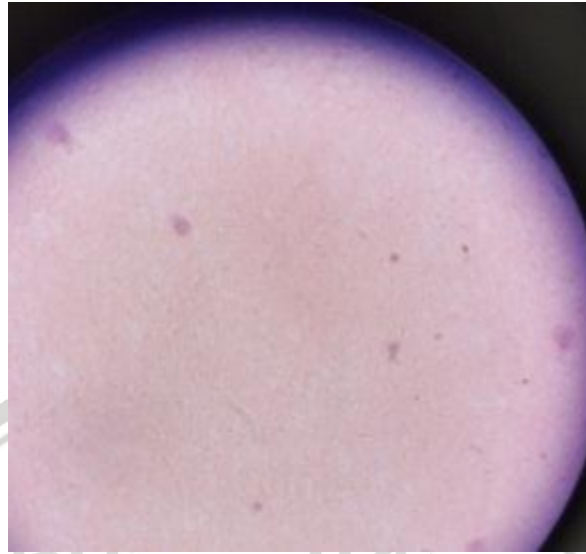
Larutan dari Politeknik Negri Malang dilarutkan dengan *dymethyl sulfoxide* (DMSO) sebanyak 1%, dan dilarutkan dengan aquades.

5.1.2 Hasil Identifikasi Ulang Bakteri Uji

Identifikasi dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Identifikasi dilakukan dengan cara pengecatan gram, oksidase, katalase, inokulasi pada medium *MacConkey*, dan VITEK-2.

5.1.2.1 Pengecatan Gram

Hasil pengecatan gram koloni *Acinetobacter baumannii* berbentuk coccobasil berwarna merah karena bersifat gram negatif (Gambar 5.1)

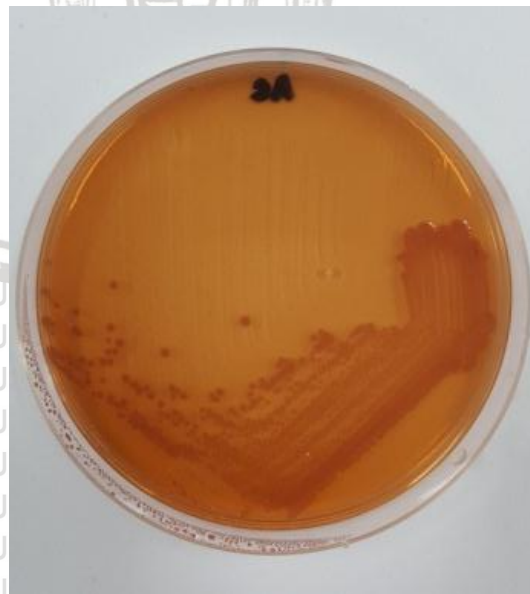


Gambar 5.1 Hasil Pengecatan Gram Bakteri *Acinetobacter baumannii*

5.1.2.2 Inokulasi pada Medium *MacConkey*

Hasil inokulasi pada medium *MacConkey* tampak koloni tumbuh berwarna pucat, berbentuk lingkaran dan halus serta mukoid dan menyebar dengan tidak ada penampakan ada perubahan warna agar di sekitar koloni. Hasil menunjukkan bakteri yang tumbuh bersifat gram negatif dan tidak ada fermentasi laktosa

(Gambar 5.2)



Gambar 5.2 Hasil Inokulasi pada Medium *MacConkey*

5.1.2.3 Tes Katalase

Hasil uji katalase menunjukkan adanya gelembung yang muncul pada pemberian H_2O_2 3% dengan menggunakan pipet di atas spesimen bakteri *Acinetobacter baumannii*. Uji katalase menunjukkan nilai positif (Gambar 5.3)



Gambar 5.3 Hasil Uji Katalase Bakteri *Acinetobacter baumannii*

5.1.2.4 Tes Oksidase

Hasil uji oksidase tidak menunjukkan adanya perubahan warna ungu pada kertas strip uji oksidase dalam waktu kurang dari 10 detik. Hal ini menandakan bahwa hasil bakteri *Acinetobacter baumannii* pada strip bernilai negatif (Gambar 5.2)



Gambar 5.2 Hasil Uji Oksidase Bakteri *Acinetobacter baumannii*

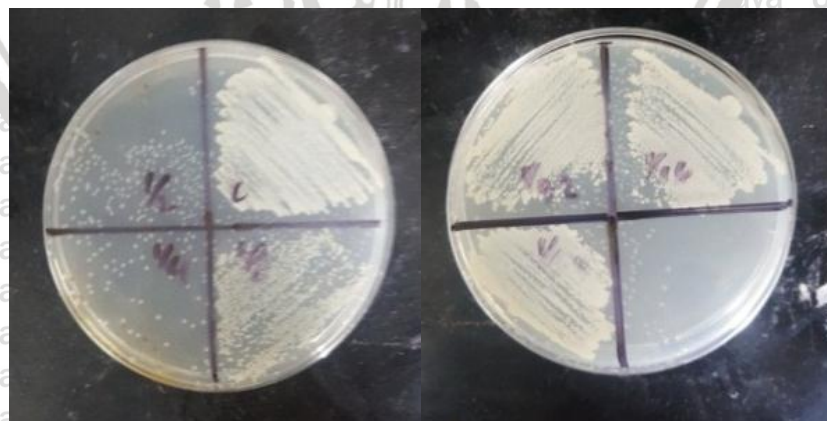
5.1.2.5 Identifikasi dengan VITEK-2

Di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar identifikasi sampel *Acinetobacter baumannii* dilakukan dengan menggunakan VITEK-2. Identifikasi dengan VITEK-2 dilakukan untuk mengetahui resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu. Pada identifikasi menggunakan VITEK-2 didapatkan hasil positif terhadap Ampicilin, Cefazolin, Aztreonam, dan Nitrofurantoin.

5.1.3 Uji Efektifitas Antibakteri

5.1.3.1 Uji Pendahuluan

Uji sensitivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang jahe merah dari Politeknik Negri Malang dengan larutan dimethyl sulfoxide sebesar 1%, diawali dengan uji pendahuluan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak *ethanol* 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% dan 1.5625%. Satu kontrol positif dibuat menggunakan dilusi tabung bertanda ekstrak 0%. Tabung reaksi diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian hasil ditanamkan pada agar, lalu agar diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam. (Gambar 5.5)



Gambar 5.5 Hasil Uji Pendahuluan Ekstrak *Ethanol* Rimpang Jahe Merah Terhadap Bakteri *Acinetobacter baumannii*

Hasil uji pendahuluan menunjukkan ada pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5% dan tidak ada pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, maka dilakukan pengulangan untuk penelitian inti pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35%.

5.1.3.2 Menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM)

Penelitian ini menggunakan tujuh macam konsentrasi yang dilakukan pada penelitian pengulangan yaitu konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 0% sebagai kontrol positif.

Kadar hambat minimal adalah adanya kejernihan dari hasil inkubasi dilusi tabung ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* selama 18-24jam dalam suhu 37°C. Pada penelitian ini, didapatkan hasil yang tidak dapat diamati kekeruhannya karena kepekatan dari ekstrak *ethanol* jahe merah cukup tinggi. Dengan demikian pada penelitian ini tidak dapat ditentukan.

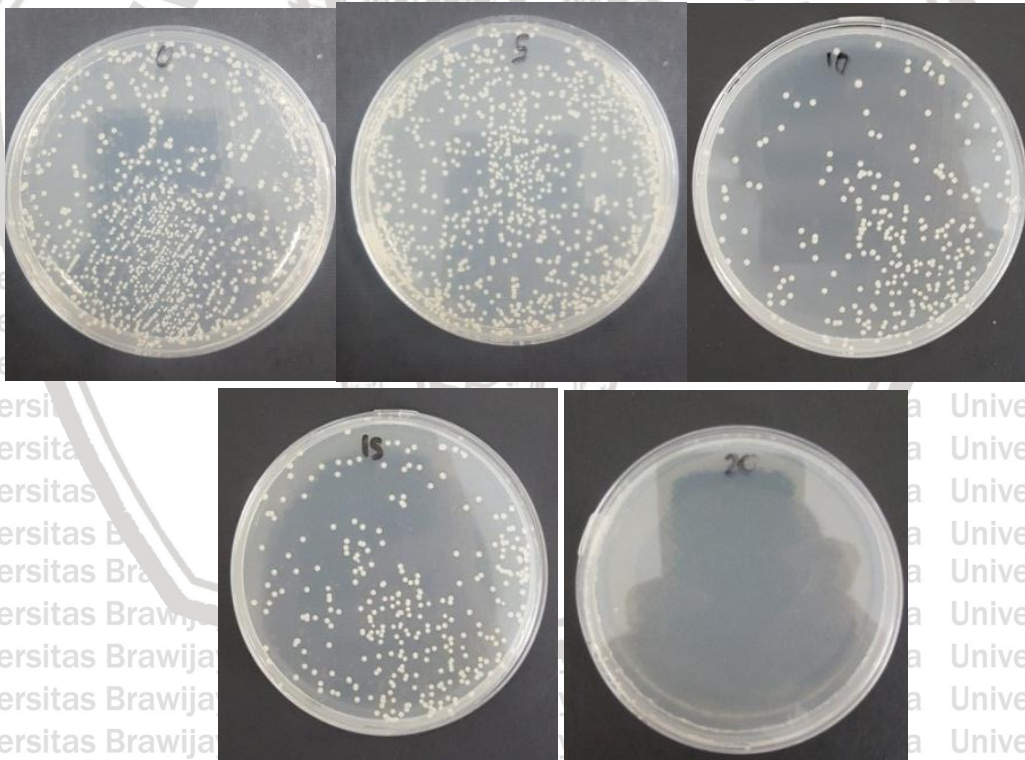


Gambar 5.6 Hasil Inkubasi Dilusi Tabung Ekstrak *Ethanol* Rimpang Jahe Merah Terhadap Bakteri *Acinetobacter baumannii*

5.1.3.3 Menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Dilakukan KBM dari hasil dilusi tabung dari setiap konsentrasi tersebut digoreskan pada medium NAP yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dari cawan yang telah diinkubasi diamati pertumbuhan koloni bakteri *Acinetobacter baumannii* kemudian pada masing-masing plate.

Nilai KBM diperoleh dengan cara menghitung jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* dalam plate dengan menggunakan *colony counter*. Pada penelitian ini, jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* pada setiap dosis ekstrak yang sudah digoreskan di cawan akan dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *Acinetobacter baumannii* pada dosis sebelumnya. Berikut hasil



Gambar 5.7 Hasil Pengulangan Ekstrak *Ethanol* Rimpang Jahe Merah terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii*

Hasil perhitungan koloni *Acinetobacter baumannii* pada media NAP akan dikaitkan agar dapat melihat ada hubungan yang signifikan antara peningkatan

konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan KBM dengan Colony Counter dalam CFU/mL

Ulangan	0%	5%	10%	15%	20%
1	1.196.799.990	61.348.570	39.222.850	2.011.430	0
2	1.086.171.420	42.240.000	31.177.140	2.816.000	0
3	1.196.799.990	57.325.710	24.137.140	2.313.140	0
4	1.287.314.280	65.371.420	39.222.850	2.011.430	0
5	955.428.570	52.297.140	34.194.280	3.017.140	0
Mean	1.144.502.850	55.716.570	33.590.850	2.433.830	0
Standart Deviasi	1.274.918.870	89.559.380	63.047.910	4.630.640	0.00

5.2 Analisa Data

5.2.1 Uji Beda rata-rata

Pengujian yang dilakukan menggunakan metode uji beda rata-rata yaitu Kruskal Wallis dan Mann Whitney sebagai uji *pos hoc*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah dengan konsentrasi yang berbeda. Sementara variable yang diamati adalah CFU/mL.

Hipotesis analisis yang digunakan adalah sebagai berikut:

H_0 : Tidak terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan antar kelompok perlakuan berdasarkan respon yang diamati ;

H_1 : Terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan antar kelompok perlakuan berdasarkan respon yang diamati.

Dengan kriteria pengujian sebagai berikut:

Nilai signifikansi < 0.05 , maka H_0 ditolak ;



Nilai signifikansi > 0.05, maka H_0 diterima.

Tabel 5.2 Pengaruh Ekstrak *Ethanol Rimpang Jahe Merah* terhadap CFU/mL

Konsentrasi	Rata – rata	STD	P	Notasi
0%	1.144.502.850	127.491.887		A
5%	55.716.570	8.955.938		B
10%	33.590.850	6.304.791	< 0.001	C
15%	2.433.820	463.064		D
20%	0	0		E

Melalui uji Sphapiro Wilk, didapatkan bahwa data CFU/mL tidak terdistribusi secara normal karena didapatkan notasi yang berbeda, sementara pada uji Levene didapatkan data tidak memiliki varians yang homogen, $p < 0.001$.

Pada uji Kruskal Wallis didapatkan bahwa $p < 0.001$, maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan nyata antar konsentrasi perlakuan. Perbedaan tersebut kemudian dijabarkan melalui uji Mann-Whitney sebagai uji *pos hoc*.

- Rata – rata CFU/mL pada konsentrasi 0% memiliki beda nyata dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, maupun 20%.
- Rata – rata CFU/mL pada konsentrasi 5% memiliki beda nyata dengan konsnetrasi 0%, 10%, 15% maupun 20%
- Rata – rata CFU/mL pada konsentrasi 10% memiliki beda nyata dengan konsentrasi 0%, 5%, 15%, maupun 20%
- Rata – rata CFU/mL pada konsetrasi 15% memiliki beda nyata dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, maupun 20%
- Rata – rata CFU/mL pada konsetrasi 20% memiliki beda nyata dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, maupun 15%

5.2.2 Uji Korelasi

Pengujian dilakukan dengan uji hubungan, yaitu dengan hasil yang ditentukan terlebih dahulu normalitas datanya, yaitu dengan menggunakan uji Kolmogorov – Smirnov atau uji Shapiro Wilk. Bila data terdistribusi normal, maka dapat dilanjutkan dengan uji Pearson, tetapi apabila data tidak terdistribusi normal, maka uji lakukan dengan menggunakan uji Spearman.

Tabel 5.3 Korelasi Ekstrak *Ethanol* Jahe Merah terhadap CFU/mL

Parameter	Rata – rata	STD	P	Koefisien Korelasi
Konsentrasi	247.248,82	461.330,72		
CFU/mL	10	7.217	<0.001	-0.985

Melalui uji Shapiro-Wilk, didapatkan bahwa kedua kelompok tidak memiliki distribusi data normal, yaitu $p < 0.001$ untuk data CFU/mL dan $p = 0.013$ untuk data konsentrasi ekstrak *ethanol* jahe merah, maka digunakan uji Spearman untuk menentukan korelasi antara konsentrasi ekstrak *ethanol* jahe merah terhadap CFU/mL. Didapatkan $p < 0.001$ dan $r = -0.985$ maka disimpulkan terdapat korelasi negatif kuat. Uji kemudian dilanjutkan dengan uji linier regresi untuk mendapatkan prediksi CFU pada konsentrasi ekstrak *ethanol* jahe merah tertentu. Melalui uji regresi linier didapatkan $r^2 = 0.537$ yang menjelaskan variasi CFU/mL yang dapat dijelaskan dengan konsentrasi ekstrak *ethanol* jahe merah adalah sebesar 53.7%. Didapatkan pula persamaan yang menjelaskan hubungan ekstrak *ethanol* jahe merah dengan CFU adalah $y = 715706507.6 - 46845768.8 x$.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ada efektivitas ekstrak *ethanol* jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* secara *in vitro* dengan menggunakan perbedaan konsentrasi ekstrak yang digunakan. Metode yang digunakan untuk penelitian ini adalah dilusi tabung untuk mengetahui sifat bakteristatik atau bakteriosidal dari antibakteri (Pankey & Sabath, 2004). Metode dilusi tabung untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal yang dimiliki oleh ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah. Kadar Hambat Minimal dilakukan dengan melihat kejernihan tabung yang berisi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah dengan *Acinetobacter baumannii* dengan kertas bergaris, sedangkan untuk Kadar bunuh Minimal dilakukan dengan menghitung jumlah koloni dalam CFU/mL dengan bantuan *colony counter*.

Bakteri *Acinetobacter baumannii* yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan strain resistensi terhadap Ampicillin, Cefazolin, Aztreonam, dan Nitrofurantoin, sedangkan ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah diperoleh dari proses ekstrak maserasi yang dilakukan di Politeknik Negeri Malang. Langkah awal dalam penelitian ini adalah dengan melakukan uji kontaminasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah yang digunakan, dilanjutkan dengan identifikasi bakteri dengan cara pengecatan Gram, penanaman pada MacConkey, uji katalase, uji oksidase dan uji VITEK-2. Dari hasil identifikasi

bakteri, dipastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah *Acinetobacter baumannii*. Setelah uji identifikasi dilakukan, berikutnya dilaksanakan uji pendahuluan yang dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii*.

Uji pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi yang diperlakukan untuk melakukan perlakuan yang tepat. Pada uji pendahuluan, dilakukan pengamatan menggunakan konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah sebesar 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100% dan 0% sebagai kontrol yang dilakukan dengan tabung dan ditanamkan secara strike pada media NAP. Setelah dilakukan masa inkubasi pada media NAP didapatkan hambatan pertumbuhan antara konsentrasi 25% dan 50%. Maka langkah berikutnya dilakukan pengulangan pada konsentrasi tersebut.

Uji pengulangan dilakukan pada konsentrasi di antara 25% hingga 50%, maka dilakukan pengulangan dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 0% sebagai kontrol. Hasil inkubasi tabung penelitian yang dilakukan, tidak didapatkan Kadar Hambatan Minimal karena tidak dapat diinterpretasikan tingkat kejernihannya. Dari hasil tabung yang diamati, setiap spesimen dilakukan strike pada medium NAP dan diinkubasi kembali. Didapatkan adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15% dan tidak didapatkan pertumbuhan pada 20% hingga 35%. Uji pengulangan dilakukan pada medium NAP secara bersamaan dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20% sebanyak 5 kali pengulangan. Pada setiap konsentrasi 0% dilakukan 1000 kali pengenceran, konsentrasi 5% dan 10% dilakukan pengenceran 100 kali dan pada konsentrasi 15% dilakukan 10 kali pengenceran untuk mendapatkan hasil pertumbuhan bakteri. Didapatkan jumlah perhitungan

pertumbuhan koloni pada medium NAP dalam satuan terdikit 0 CFU/mL pada konsentrasi 20% dan terbanyak 1.287.314.280 CFU/mL. Hal ini menunjukkan bahwa adanya Kadar Bunuh Minimal antibakteri dari ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah terdapat pada konsentrasi 20%.

Hasil penelitian kemudian dianalisis dengan *IBM SPSS Statistics 20 software* untuk *windows*. Pada hasil analisis, didapatkan bahwa hasil data yang didapatkan terdistribusi tidak normal dan tidak homogen. Data tersebut juga menunjukkan adanya perbedaan efek pada pemberian setiap konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah terhadap jumlah koloni *Acinetobacter baumannii*.

Selain itu, didapatkan juga bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah yang digunakan, maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh dan sebaliknya. Hal ini berarti adanya hubungan nyata antara besar konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah dengan jumlah koloni bakteri yang terbunuh. Hasil analisis data tersebut, disimpulkan bahwa ekstrak *ethanol* rimpang kunyit dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, maka dapat disimpulkan ekstrak *ethanol* rimpang kunyit dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* secara *in vitro*. Jumlah koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah sebesar 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%, menunjukkan adanya kadar bunuh minimal (KBM) pada konsentrasi 20%. Dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah yang digunakan, semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh.

Ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah memiliki efek antibakteri terhadap *Acinetobacter baumannii* karena mengandung senyawa aktif yaitu fenol beruba

gingerol dan shogaol, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri (Nursal et al., 2006).

Senyawa fenol diketahui dapat mendenaturasi protein dan menurunkan

tegangan permukaan sel, sehingga dapat merusak membran sel bakteri. Hal ini

akan menyebabkan senyawa fenolik masuk ke dalam sel dan menyebabkan

kebocoran membran. Lebih lanjut, metabolit esensial yang dibutuhkan bakteri

akan keluar dari sel sehingga bakteri akan mati (Pandiangan, 2012). Flavonoid

bekerja dalam tiga hal yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat

fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Hendra R et al.,

2011) Senyawa terpenoid bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel

bakteri, membentuk ikatan polimer yang sangat kuat sehingga mengakibatkan

rusaknya porin, dengan rusaknya porin sebagai pintu keluar masuknya senyawa,

akan mengurangi permeabilitas dinding bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri

terhambat atau mati (Cowan, 1999). Sedangkan minyak atsiri bekerja

menghambat atau mematikan pertumbuhan mikroba dengan mengganggu

proses terbentuknya dinding sel (Ajizah, 2004)

Penelitian ini memiliki keterbatasan karena hanya menggunakan satu

isolat bakteri *Acinetobacter baumanini* yang didapatkan dari Laboratorium

Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Maka keterbatasan lain

juga validitas eksternal yang belum teruji, sehingga penelitian ini belum dapat

digeneralisasikan. Penggunaan satu isolat bakteri belum memenuhi syarat

generalisasi, karena setiap isolat memiliki kepekaan yang berbeda terhadap satu

bahan antibakteri yang sama. Maka diperlukan penelitian lanjutan yang

menggunakan isolat bakteri *Acinetobacter baumannii* yang diperoleh dari sumber

lain maupun isolat bakteri lain.

Keterbatasan lain pada penelitian ini adalah belum adanya proses pembuatan ekstrak yang terstandar dengan kontrol jaminan mutu, sehingga memungkinkan adanya perbedaan hasil sekiranya ekstrak rimpang kunyit tersebut dibuat di laboratorium yang berbeda. Maka perlu dicoba juga uji antibakteri ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah yang dibuat dengan proses ekstraksi yang berbeda untuk melihat apakah didapatkan hasil yang sama.

Penelitian ini belum sepenuhnya mengeksplorasi kandungan aktif yang ada dalam ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah, dan efek masing-masing kandungan aktif tersebut sebagai bahan antibakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menggali lebih dalam kandungan bahan aktif dan kegunaannya masing-masing, terutama dalam aktivitasnya sebagai antibakteri.

Uji mengenai aplikasi klinis ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah masih memerlukan penelitian lebih lanjut dengan pengujian pada hewan coba (*in vivo*) maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Penelitian *in vivo* pada hewan coba bertujuan untuk meneliti sifat farmako kinetik, farmako dinamik, efek toksik, dosis infektif dan memperkecil resiko penelitian pada manusia. Pengujian pada manusia (uji klinik) bertujuan untuk memastikan keamanan dan gambaran efek samping yang dapat timbul dari pemakaian pada manusia.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) memiliki efek antibakteri terhadap *Acinetobacter baumannii* secara *in vitro* dengan metode dilusi tabung.
- b. Kadar Hambat Minimal dari ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) terhadap jumlah bakteri *Acinetobacter baumannii* tidak dapat ditentukan karena terdapat kekeruhan pada inkubasi tabung
- c. Kadar Bunuh Minimal dari ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) terhadap jumlah koloni pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* adalah 20%
- d. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) yang digunakan maka semakin rendah jumlah bakteri *Acinetobacter baumannii*.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah:

- a) Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui persentase kandungan bahan aktif utama ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah yang berperan sebagai antibakteri.

- b) Perlu dilakukan penelitian-penelitian lanjutan dengan metode yang sama dengan menggunakan isolat bakteri *Acinetobacter baumannii* yang berbeda, untuk menguji validitas hasil penelitian secara general.
- c) Perlu dilakukan penelitian-penelitian lain dengan menggunakan ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah terhadap *Acinetobacter baumannii* dengan metode lain seperti agar dilution test, metode cakram, dan spektrofotometri.
- d) Perlu dilaksanakan standarisasi jaminan mutu dalam pembuatan ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah dan lama masa simpan ekstrak yang masih dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap *Acinetobacter baumannii*.
- e) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas serta efek samping yang ekstrak *ethanol* rimpang jahe merah secara *in vivo* ataupun uji klinik sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan terhadap infeksi *Acinetobacter baumannii* di masyarakat

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed, J, Seifert, H, Snelling, AM & Heritage, J 1998, 'Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates.', *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 36.

Ajizah, A 2004, 'Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L'*, *Bioscientiae*, vol. 1, no. 1, pp. 8-31.

Backer, CA & Jr, RCBvdB 1968, *Flora of Java*, Groningen : Wolters-Noordhoff N.V.

Bhattarai, S, Tran, VH & Duke, CC 2001, 'The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions', *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 90.

Bode, AM & Dong., Z 2011, *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects, Second Edition*, CRC Press, Francis.

Carvalho, KR, Carvalho-Assef, APDA, Santos, LGd, Pereira, MJF & Asensi, MD 2011, 'Occurrence of blaOXA-23 gene in imipenem-susceptible *Acinetobacter baumannii*', *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 106.

Cowan, MM 1999, *Plant Products as Antimicrobial Agents, Clinical Microbiology Reviews*, Department of Microbiology, Miami University, Oxford, Ohio.

Cushnie, T & Lamb, AJ 2005, 'Antimicrobial activity of flavonoids', *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 26.

Davis, KA, Moran, KA, McAllister, CK & Gray, PJ 2005, 'Multidrug-Resistant *Acinetobacter* Extremity Infections in Soldiers', *Emerging infectious diseases*, vol. 11.

Dijkshoorn, L, Aken, Ev, Shunburne, L, Reijden, TJKvd, Bernards, AT, Nemeč, A & Towner, KJ 2005, 'Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other *Acinetobacter* spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals', *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 11, no. 4, pp. 329-332.

Falagas, ME, Karveli, EA, Kelesidis, I & Kelesidis, T 2007, 'Community-acquired *Acinetobacter* infections', *European Journal of Clinical Microbiology*, vol. 26.

Fournier, P-E & Richet, H 2006, 'The Epidemiology and Control of *Acinetobacter baumannii* in Health Care Facilities', *Clinical Infectious Diseases*, vol. 42.

Garnacho-Montero, J, Ortiz-Leyba, C, Fernández-Hinojosa, E, Aldabó-Pallás, T, Cayuela, A, Marquez-Vácaro, JA, Garcia-Curiel, A & Jiménez-Jiménez, FJ 2005, 'Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia: Epidemiological and clinical findings', *Intensive Care Medicine*.

Gaynes, RP & Edwards, JR 2005, 'Overview of Nosocomial Infections Caused by Gram-Negative Bacilli', *Clinical Infectious Diseases* vol. 41.

Gholib 2008, 'Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan Jahe Putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) Terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans*', *Seminar Nasional Teknologi Peternakan Veteriner*.

Gil-Perotin, S, Ramirez, P, Marti, V, Sahuquillo-Arce, JM, Gonzalez, E, Calleja, I, Menendez, R & Bonastre, J 2012, 'Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: A state of concept', *Critical care (London, England)*, vol. 16.

Harmono & Andoko, A 2005, *Budi Daya & Peluang Bisnis Jahe*, AgroMedia.

Hendra, R, Ahmad, S, Sukari, A & Shukor, MY 2011, 'Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 12.

Howard, A, O'Donoghue, M, Feeney, A & Sleator, RD 2012, 'Acinetobacter baumannii an Emerging Opportunistic Pathogen', *Landes Bioscience*, pp. 243-250.

Indrawati, I, Miranti, M & Isy'aini, RM 2017, 'Antibacterial activity of ethanolic extracts of rhizome from three ginger varieties against acne isolated bacteria', *Nusantara Bioscience*, vol. 9, pp. 92-96.

JrJaneway, C, Travers, P & Walport, M 2001, *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*, Edisi 5th, Garland Science, New York.

Jung, J & Park, W 2015, 'Acinetobacter species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives', *Microbiology and Biotechnology*.

Kim, E-C, Min, J-K, Kim, T-Y, Lee, S-J, Yang, HO, Han, S, Misun, K & Kwon, YJ 2005, '[6]-Gingerol, a pungent ingredient of ginger, inhibits angiogenesis

in vitro and in vivo', *Biochemical and Biophysical Research Communications* vol. 335.

Lukito, AM 2007, *Petunjuk Praktis Bertanam Jahe*, Agromedia Pustaka, Jakarta.

Madigan, MT, Bender, KS, Buckley, DH, Sattley, WM & Stahl, DA 2017, *Brock Biology of Microorganisms (15th Edition)*, Pearson.

Maragakis, LL & Perl, TM 2008, 'Acinetobacter baumannii: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options', *Clinical Infectious Diseases*, vol. 46.

Mishra, RK, Kumar, A & Kumar, A 2012, 'Pharmacological activity of Zingiber officinale', *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*.

Montefour, K, Frieden, J, Hurst, S, Helmich, C, Headley, D, Martin, M & Boyle, D 2008, 'Acinetobacter baumannii: An emerging multidrug-resistant pathogen in critical care', *Critical Care Nurse*, vol. 28.

Nugroho, RBA 2012, *Hubungan Faktor Risiko Terjadinya Acinetobacter sp MDRO terhadap Kematian Penderita Sepsis di PICU Rumah Sakit dr.Kariadi Semarang*, Diponegoro.

Nursal, SW 2006, 'Bioaktivitas ekstrak jahe (Zingiber officinale Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri Escherichia coli dan Bacillus subtilis.', *Jurnal Biogenesis*, vol. 2, pp. 64-66.

Oncul, O, Keskin, O, Acar, HV, Kucukardali, Y, Evrenkaya, R, Atasoyu, EM, Top, C, Nalbant, S, Ozkan, S, Emekdaş, G, Cavuşlu, S, Us, MH, Pahsa, A & Gökben, M 2002, 'Hospital-acquired infections following the 1999 Marmara earthquake', *Journal of Hospital Infection*, vol. 51.

Pandiangan, M 2012, 'Kajian Aktivitas Atimikrobia Ekstrak Kunyit (Curcuma domestica val) terhadap Bakteri Patogen', *Media Unika*, vol. 3.

Pankey, G & Sabath, LD 2004, 'Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram - Positive Bacterial Infections', *Clinical Infectious Diseases*, vol. 36.

Peleg, AY, Seifert, H & Paterson, DL 2008, 'Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen.', *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 21.

Poeloengan, M 2011, 'The effect of red ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extract on the growth of mastitis causing bacterial isolates', *African journal of microbiology research* vol. 5.

Purseglove, JW, Brown, EG, Green, CL & Robbins, SRJ 1981, *Spices*, Longman, London UK.

Quattrocchi, U 2012, *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology*, CRC Press. ventilator-associated pneumonia with antimicrobial-coated endotracheal tubes', *Biomaterials*, vol. 32.

Raharjo, B 2014, *Uji Efek Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale var. Rubrum) terhadap Bakteri Streptococcus pyogenes No.LKS07 (In Vitro)*. Brawijaya.

Rahingtyas, DK 2008, *Pemanfaatan Jahe (Zingiber officinale) sebagai Tablet Isap untuk Ibu Hamil dengan Gejala Mual dan Muntah*, Institut Pertanian Bogor. file:///C:/Users/Anna/Downloads/A08dkr.pdf.

Rahmani, AH, Shabrmi, FMA & Aly, SM 2014, 'Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities', *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, vol. 6.

Rashid, J, Taiwo, OO, Ahluwalia, I & Chungong, S 2004, 'Disparities in Infectious Diseases among Women in Developing Countries', *Emerg Infect Dis*.

Rodríguez-Baño, J, Alcalá, JC, Cisneros, JM, Grill, F, Oliver, A, Horcajada, JP, Tórtola, T, Mirelis, B, Navarro, G, Cuenca, M, Esteve, M, Peña, C, Llanos, AC, Canton, R & Pascual, A 2008a, 'Community Infections Caused by Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*', *Archives of internal medicine*, vol. 168.

Sari, KIP, Periadnadi & Nasir, N 2013, 'Uji antimikroba ekstrak segar jahe-jahean (*zingiberaceae*) terhadap *staphylococcus aureus*, *escherichia coli* dan *candida albicans*', *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, vol. 2.

Semwal, RB, Semwal, DK, Combrinck, S & Viljoen, A 2015, 'Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger', *Phytochemistry*, vol. 117.

Setiawan, B 2015, *Peluang Usaha Budidaya Jahe*, Pustaka Baru Press, Yogyakarta.

Sievert, DM, Ricks, P, JR, JRE, Schneider, A, Patel, J, Srinivasan, A, Kallen, A, Limbago, B, Fridkin, S & Facilities., NHSNNTaPN 2010, 'Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010.', *Infect Control Hosp Epidemiol*, vol. 34.

Simor, AE, Lee, M, Vearncombe, M, Jones-Paul, L, Barry, C, Gomez, M, Fish, J, Cartotto, R, Palmer, RWH & Louie, MM 2002, 'An Outbreak Due to Multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a Burn Unit: Risk Factors for Acquisition and Management', *Infection Control and Hospital Epidemiology*, vol. 23.

Wardana, H, Barwa, NS, A.Kongsjahyu, Iqbal, MA, M.Khalid & Karyad, RR 2002, *Budidaya secara Organik Tanaman Obat Rimpang*, Penebar Swadaya, Jakarta.

Wang, H-M, Chen, C-Y, Chen, H-A, Huang, W-C, Lin, W-R, Chen, T-C, Lin, C-Y, Chien, H-J, Lu, P-L, Lin, C-M & Chen, Y-H 2010, 'Zingiber officinale (Ginger) Compounds Have Tetracycline-resistance Modifying Effects Against Clinically Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*', *Phytotherapy Research*

Zahra, A, Manijeh, A & Maryam, M 2009, 'Inhibitory Effect of Ginger Extract on *Candida albicans*', *American Journal of Applied Sciences*, vol. 6.

Zamroni Salim, PD & Emawati Munadi, PD 2017, *Info Komoditi Tanaman Obat*, Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan