

EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) DENGAN METODE MASERASI TERHADAP *Escherichia coli* SECARA IN VITRO

TUGAS AKHIR

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Oleh :

Luh Putu Ayu Pradnya Iswari

NIM. 0910710091

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

2012

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) DENGAN METODE MASERASI TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

Luh Putu Ayu Pradnya Iswari

NIM : 0910710091

Telah diuji pada :

Hari : Jumat

Tanggal : 7 Desember 2012

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Sri Poeranto Y.S., M.Kes., Sp.ParK.

NIP. 19520506 198002 1 002

Penguji II / Pembimbing I

Dr. drh. Sri Murwani, MP.

NIP. 19630101 198903 2 001

Penguji III / Pembimbing II

dr. Subandi, M.Kes., DAHK, PA (K)

NIP. 19490412 198002 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H., M.Sc., Sp.ParK.

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Ucapan Puji Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa. Karena hanya dengan berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul: " Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) dengan Metode Maserasi terhadap *Escherichia coli* secara *In Vitro*" dengan baik.

Ketertarikan penulis terhadap topik ini didasarkan atas belum begitu berkembangnya pemanfaatan rimpang temu putih dalam kehidupan sehari-hari dan mudahnya tanaman temu putih ini untuk didapatkan serta dibudidayakan di lingkungan sekitar penulis.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA sebagai dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K sebagai Ketua Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Dr. drh. Sri Murwani, MP. selaku Dosen Pembimbing pertama yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dengan sabar, serta masukkan selama penulisan tugas akhir ini.

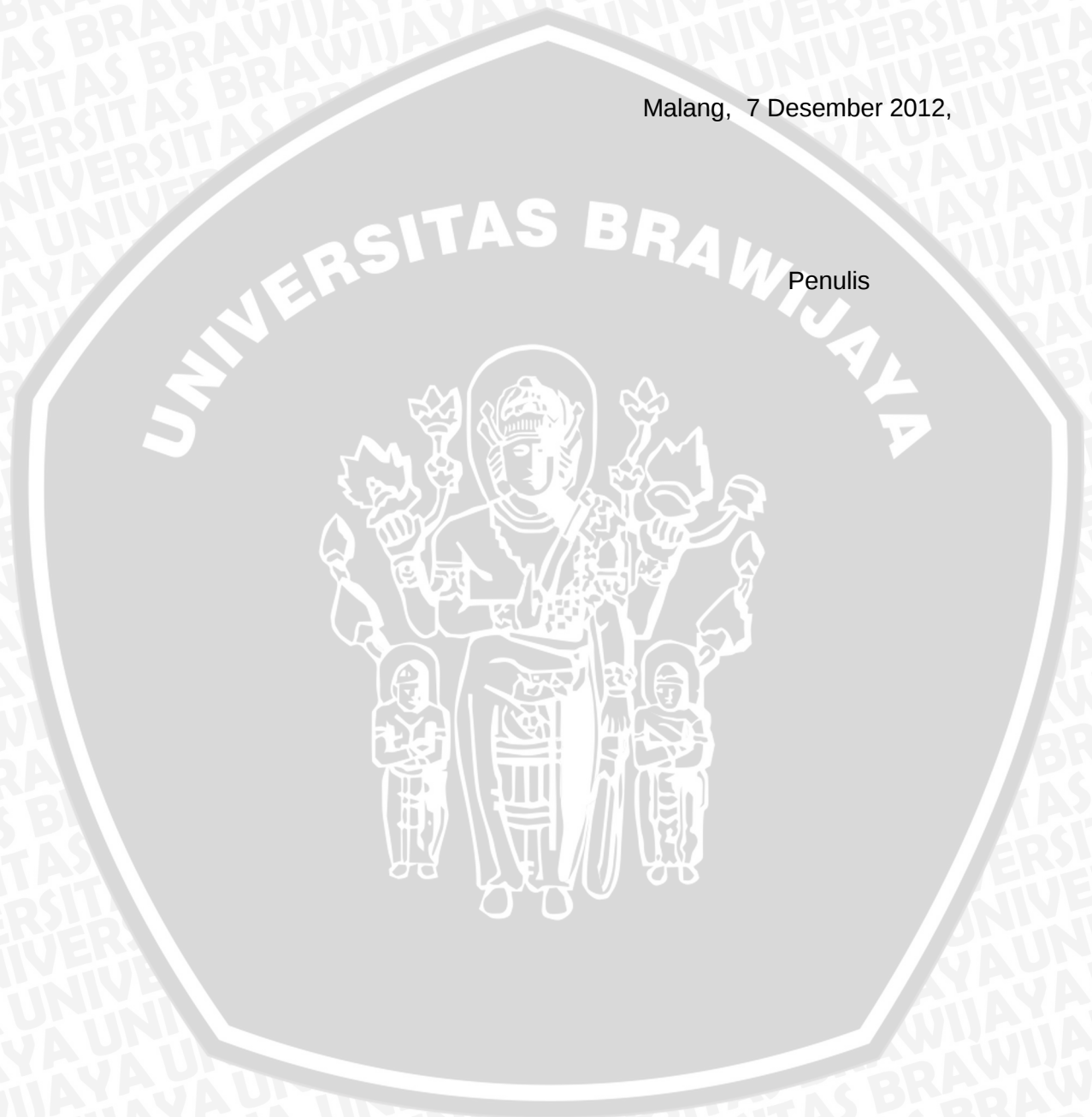
4. dr. Subandi, M.Kes., DAHK, PA (K) selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama penulisan tugas akhir ini.
5. dr. Sri Poeranto Y.S., M.Kes., Sp.ParK. selaku Dosen Penguji atas kesediaannya memberikan masukan dan penilaiannya untuk menyempurnakan tugas akhir ini.
6. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya khususnya Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. dan dr. Soemardini, M.Pd.
7. Mas Slamet, Mbak Uci, Mas Hendri, Bu Yati selaku staf Laboratorium Mikrobiologi FK-Unibraw untuk keahlian dan ketelatenannya dalam membantu pelaksanaan penelitian.
8. Yang tercinta kedua orang tua saya, dr. I Ketut Setiawan, SpB dan Ni Made Sukiari, S.Pd. dan adik-adikku Kadek Herma Abi Nanda, Ketut Wahyu yang selalu mendukung dan mendoakan dalam penyelesaian Tugas Akhir ini.
9. Sahabat-sahabatku yaitu: Maretha Laksmi M., Cahyani C., Made Ayu, Desi Rahmi, Dyah Lukito, Kak Lanang, Kak Andhika, Dimas S. yang telah memberi masukan, semangat, dan bantuan dalam penyelesaian tugas akhir ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu selama ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis berharap agar Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan dan menambah wawasan ilmu pengetahuan kepada pembaca

sekalian. Penulis membuka diri untuk semua saran dan kritik yang membangun demi kesempurnaan Tugas Akhir ini.

Malang, 7 Desember 2012,

Penulis



ABSTRAK

Iswari, Luh Putu Ayu P. 2012. **Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) Dengan Metode Maserasi Terhadap *Escherichia coli* Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. drh. Sri Murwani, MP. (2) dr. Subandi, M.Kes., DAHK, PA (K).

Escherichia coli dikenal sebagai penyebab paling sering infeksi nosokomial, diare, meningitis, dan sepsis. Rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) memiliki kandungan senyawa tannin, flavonoid, dan saponin. Senyawa aktif tersebut berperan sebagai antibakteri untuk *E. coli* yang dibuktikan dalam penelitian ini dengan menggunakan desain experimental. Metode dilusi tabung digunakan untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal (KHM), dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Ekstrak diperoleh melalui metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Konsentrasi yang digunakan yaitu 18%, 19%, 20%, 21%, dan 22%. Dari penelitian didapatkan KHM ekstrak rimpang temu putih berada pada konsentrasi 21% yang menampakkan kejernihan sama dengan kontrol bahan. KBM berada pada konsentrasi 22%, dimana tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada cawan petri. Hasil penelitian menunjukkan secara signifikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak rimpang temu putih maka semakin rendah pertumbuhan *E. coli*. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol rimpang temu putih memiliki efek antibakteri terhadap *E. coli* secara *in vitro*.

Kata kunci: *Escherichia coli*, ekstrak rimpang temu putih, antibakteri, dilusi tabung

ABSTRACT

Iswari, Luh Putu Ayu P. 2012. **Antibacterial Effect of Ethanol Extract of White Ground Rhizome (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) Maceration Method Against *Escherichia coli* In Vitro**. Final Assignment, School of Medicine Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. drh. Sri Murwani, MP. (2) dr. Subandi, M.Kes., DAHK, PA (K).

Escherichia coli is known as the most frequent cause of nosocomial infections, diarrhea, meningitis, and sepsis. White ground rhizome (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) compound contains tannins, flavonoids and saponins. The active compound acts as an antibacterial for *E. coli* were demonstrated in this study using experimental design. Tube dilution method is used to determine the value Levels Minimal Inhibitory (MIC) and Minimum Levels Kill (KBM). The extract obtained by maceration method with 96% ethanol. Concentrations used were 18%, 19%, 20%, 21%, and 22%. MIC of extracts obtained from studies of white ground rhizome is at 21% concentration showed the same clarity to the control materials. KBM is at a concentration of 22%, where there is no growth of bacterial colonies on a petri dish. The results showed significantly that the higher concentration of white ground rhizome extract, the lower the growth of *E. coli*. The conclusion of this research is the white ground rhizome ethanol extract has an antibacterial effect against *E. coli* in vitro.

Keywords: *Escherichia coli*, white ground rhizome extracts, antibacterial, tube dilution

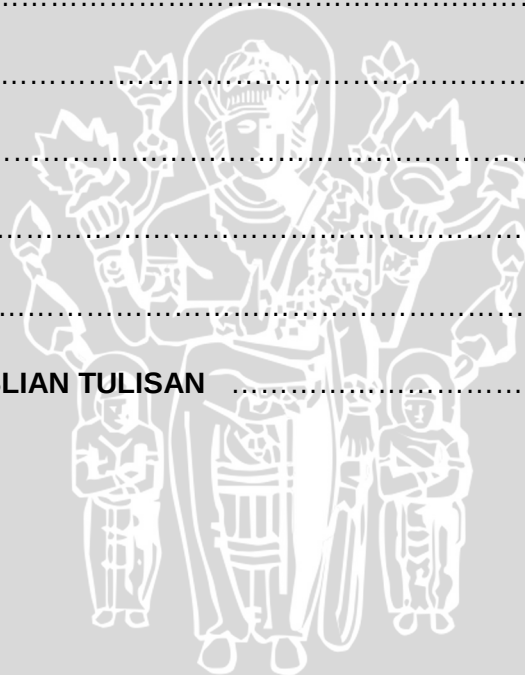
DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
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.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Akademis.....	3
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5

2.1 Temu putih (<i>Curcuma zedoaria</i> [Berg.] Roscoe)	5
2.1.1 Taksonomi	5
2.1.2 Morfologi	6
2.1.3 Habitat dan Sebaran	8
2.1.4 Kandungan Kimia Rimpang Temu Putih	9
2.1.5 Daya Antibakteri Rimpang Temu Putih	9
2.1.6 Khasiat dan Kegunaan Temu Putih	12
2.2 <i>Escherichia coli</i>	13
2.2.1 Taksonomi	14
2.2.2 Morfologi dan Sifat Umum	14
2.2.3 Ciri-ciri Pertumbuhan	15
2.2.4 Struktur Antigen	16
2.2.5 Manifestasi Klinis	19
2.3 Bahan Antibakteri	22
2.3.1 Mekanisme Umum Antibakteri	22
2.3.2 Uji Kepekaan terhadap Antibakteri <i>in vitro</i>	24
2.4 Resistensi Antibakteri.....	27
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	29
3.1 Kerangka Konsep	29
3.1.1 Temu putih (<i>Curcuma zedoaria</i> [Berg.] Roscoe).....	29
3.1.2 <i>Escherichia coli</i>	29
3.1.3 Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri dari bahan antibakteri.....	29

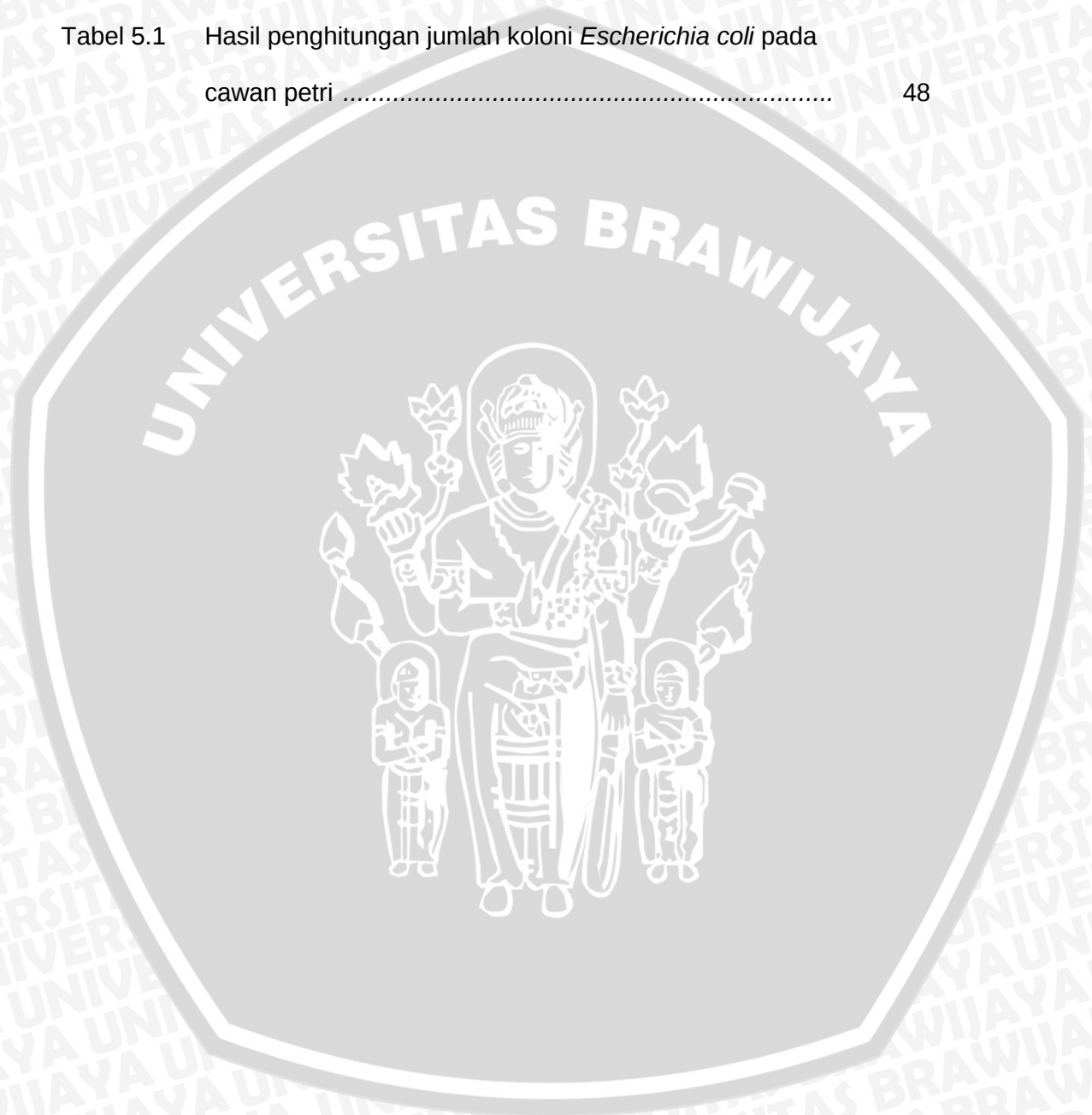
3.3 Penjelasan Kerangka Konsep	30
3.3 Hipotesis Penelitian	30
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	31
4.1 Rancangan Penelitian	31
4.2 Populasi dan Sampel	31
4.3 Variabel Penelitian	32
4.3.1 Variabel Bebas.....	32
4.3.2 Variabel Tergantung.....	32
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	32
4.5 Bahan dan Alat	32
4.5.1 Untuk Pembuatan Ekstrak.....	32
4.5.2 Untuk Identifikasi Bakteri.....	33
4.5.3 Untuk Uji Sensitivitas Bakteri Terhadap Antibakteri (Metode Dilusi Tabung).....	33
4.5.4 Untuk Uji Streaking pada Cawan Petri	33
4.6 Definisi Operasional	33
4.7 Prosedur Penelitian	35
4.8 Analisis Data	42
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	44
5.1 Data Hasil Penelitian	44
5.1.1 Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	44
5.1.2 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri <i>Escherichia coli</i>	45

5.2 Analisis Data	50
5.2.1 Uji Kolmogorov – Smirnov	50
5.2.2 Uji Homogenitas	50
5.2.3 Uji Kruskal–Wallis	51
5.2.4 Uji Mann–Whitney	51
5.2.5 Uji Korelasi dan Regresi	52
BAB 6 PEMBAHASAN	54
BAB 7 PENUTUP	61
7.1 Kesimpulan	61
7.2 Saran	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	68
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	90



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Hasil penghitungan jumlah koloni <i>Escherichia coli</i> pada cawan petri	48
-----------	---	----

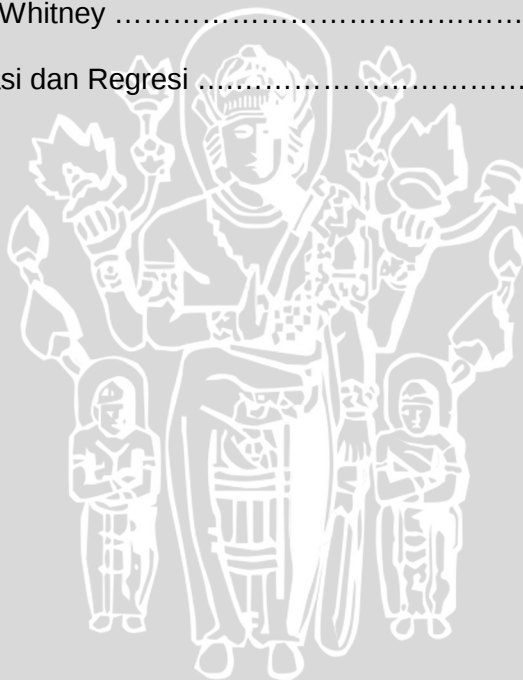


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Temu Putih	6
Gambar 2.2 Rimpang temu putih	8
Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid	10
Gambar 2.4 Struktur Kimia Tanin.....	11
Gambar 2.5 Struktur Kimia Saponin.....	12
Gambar 2.6 Gambaran mikroskopis <i>Escherichia coli</i>	15
Gambar 2.7 Gambaran koloni <i>Escherichia coli</i> pada EMB.....	16
Gambar 2.8 Struktur antigen <i>Escherichia coli</i>	18
Gambar 4.1 Skema Alur Uji Antimikroba Ekstrak Rimpang Temu Putih Terhadap <i>Escherichia coli</i>	42
Gambar 5.1 Uji identifikasi <i>Escherichia coli</i>	44
Gambar 5.2 Perbandingan berbagai konsentrasi ekstrak rimpang temu putih dengan tingkat kekeruhan pada dilusi tabung untuk uji KHM	45
Gambar 5.3 Perbandingan antara kontrol negatif (bahan) dengan konsentrasi 21%	46
Gambar 5.4 Streaking <i>Escherichia coli</i> pada cawan petri	47
Gambar 5.5 Grafik Hasil Jumlah Koloni <i>Escherichia coli</i> Tiap Pengulangan terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Rimpang Temu Putih	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Alat dan Bahan.....	68
Lampiran 2	Identifikasi Bakteri dan Hasil Penelitian.....	69
Lampiran 3	Identifikasi Tanaman Temu Putih	72
Lampiran 4	Uji Normalitas	73
Lampiran 5	Uji Homogenitas	74
Lampiran 6	Uji Kruskal-Wallis	75
Lampiran 7	Uji Mann-Whitney	76
Lampiran 8	Uji Korelasi dan Regresi	87



DAFTAR SINGKATAN

ADP	: Adenosin-difosfat
Berg.	: Berginian
cGMP	: cyclic Guanosine Monophosphate
CT	: <i>Cholerae Toxin</i>
CFU	: Colony Forming Unit
DNA	: Dinucleotide Acid
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EMB	: Eosin Methylene Blue
EAEC	: Enteroagragative <i>E.coli</i>
EHEC	: Enterohemoragic <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvasive <i>E. coli</i>
EPEC	: Enteropathogenic <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoxigenic <i>E. coli</i>
gr	: gram
HUS	: <i>Hemolytic Uremic Syndrome</i>
IU	: International Unit
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KHM	: Kadar Hambat Minimum
KN	: Kontrol Negatif
KP	: Kontrol Positif
LD50	: Lethal Dose 50

LPS	: lipopolisakarida
LT	: <i>heat-labile enterotoksin</i>
mg	: miligram
MH	: Mueller Hinton
ml	: milliliter
mm	: millimeter
MUG	: <i>4-methyl-umbelliferyl-β-glucoronide</i>
NaCl	: Natrium Chloride
NAD	: Nikotinamid-adenin-dinukleotida
NAP	: Nutrient Agar Plate
NCAM	: <i>Neural cell adhesion molecule</i>
NCCLS	: <i>National Commite for Clinical Laboratory Standard</i>
NFA	: Nonfimbrial
OD	: Optical Density
OI	: Original Innoculum
SLT	: <i>shiga liketoksin</i>
SPSS	: Statistical Product of Service Solution
ST	: <i>heat-stabile enterotoksin</i>
μ g	: mikrogram
μ m	: mikrometer
VTEC	: <i>Verotoxin-producing E. Coli</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Infeksi merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama di daerah tropis seperti Indonesia karena keadaan udara yang berdebu, temperatur yang hangat, dan lembab sehingga mikroba dapat tumbuh subur. Penyakit infeksi juga banyak terjadi di pusat-pusat pelayanan kesehatan yang dikenal juga sebagai infeksi nosokomial. Penyakit infeksi nosokomial dapat disebabkan oleh bakteri, salah satunya adalah *Escherichia coli* (Dianasari, 2009).

Escherichia coli termasuk golongan Enterobacteriaceae yaitu bakteri gram negatif yang biasanya hidup sebagai normal flora di saluran pencernaan, tetapi bila ada suatu perubahan pada saluran pencernaan, bakteri ini dapat berubah fungsi menjadi merugikan. Infeksi dari *E. coli* dapat mengakibatkan diare dan infeksi saluran kemih, yang tentunya menjadi salah satu masalah kesehatan (Dzen dkk, 2003). Untuk mengatasinya digunakan obat antibakteri dengan tujuan menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri tersebut. Namun, seiring dengan berjalannya waktu, penggunaan antibakteri telah dibatasi karena efek samping dan masalah resistensinya (Dianasari, 2009).

Resistensi *E. coli* terhadap berbagai antibiotika telah banyak dilaporkan, khususnya antibiotika golongan β -laktam. Resistensi *E.coli* terhadap amoksisilin dan antibiotika sefalosporin diperkirakan mencapai 30% (Coyle dan Prince, 2005). Permasalahan resistensi bakteri pada penggunaan antibiotika merupakan salah satu masalah yang berkembang di seluruh dunia. WHO dan beberapa organisasi telah mengeluarkan pernyataan mengenai pentingnya mengkaji

faktor-faktor yang terkait dengan masalah tersebut, termasuk strategi untuk mengendalikan kejadian resistensi (Bronzwaer *et al.*, 2002). Masalah resistensi mikroba terhadap obat-obatan yang ada, mendorong pentingnya penggalian sumber antimikroba dari bahan alam. Tanaman diketahui berpotensi jika dikembangkan pada penyakit infeksi, hanya saja belum banyak yang dibuktikan secara ilmiah (Dianasari, 2009).

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg] Roscoe) yang masuk dalam spesies tumbuhan famili Zingiberaceae. Secara tradisional temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) digunakan sebagai antimikroba dan antifungal. Secara *in vitro* minyak atsiri dari temu putih menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, β *Streptococcus hemolyticus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Vibrio cholerae*. Kandungan yang diduga sebagai antibakteri pada temu putih adalah minyak atsiri, tanin, saponin, dan flavonoid (Sarmoko, 2010).

Suatu penelitian dari Universitas Udayana menunjukkan bahwa, isolat triterpenoid dalam ekstrak kental kloroform rimpang temu putih yang diperoleh, mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 500 ppm dan 1000 ppm dengan daya hambat lemah sebesar 1 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* serta dan 2 mm untuk bakteri *Escherichia coli* (Rita, 2010).

Berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode dilusi tabung. Sehingga nantinya dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri *Escherichia coli*.

1.2 Rumusan masalah

Apakah ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* dalam studi *in vitro* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dalam studi *in vitro*.

1.3.2 Tujuan khusus

- Untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) terhadap bakteri *Escherichia coli* dalam studi *in vitro*.
- Untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) terhadap bakteri *Escherichia coli* dalam studi *in vitro*.

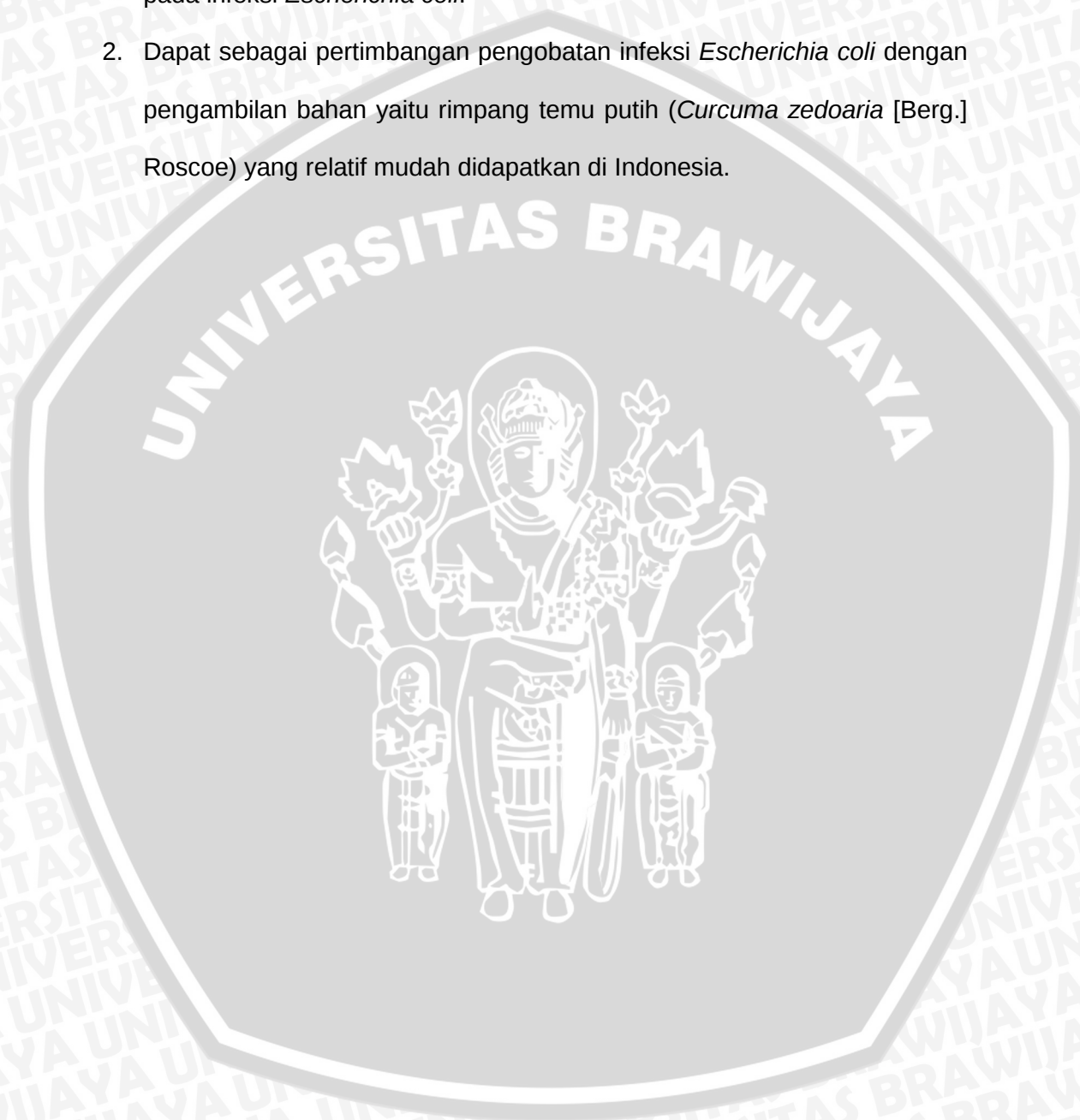
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya dan mendukung perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang kedokteran, terutama yang berhubungan dengan aspek mikrobiologi.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Sebagai wacana atau bahan pertimbangan sebagai alternatif antibiotik pada infeksi *Escherichia coli*.
2. Dapat sebagai pertimbangan pengobatan infeksi *Escherichia coli* dengan pengambilan bahan yaitu rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) yang relatif mudah didapatkan di Indonesia.



BAB 2

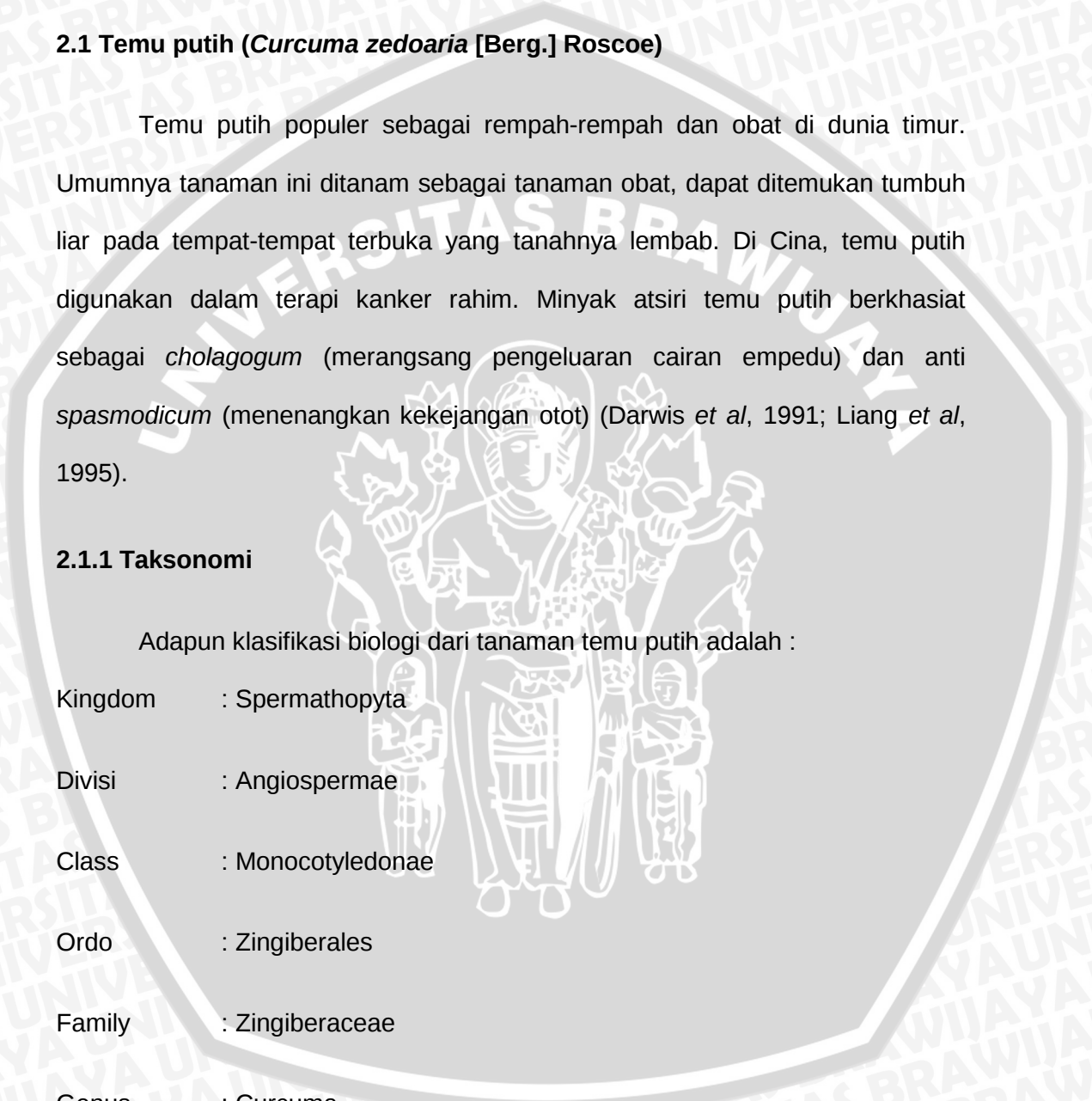
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe)

Temu putih populer sebagai rempah-rempah dan obat di dunia timur. Umumnya tanaman ini ditanam sebagai tanaman obat, dapat ditemukan tumbuh liar pada tempat-tempat terbuka yang tanahnya lembab. Di Cina, temu putih digunakan dalam terapi kanker rahim. Minyak atsiri temu putih berkhasiat sebagai *cholagogum* (merangsang pengeluaran cairan empedu) dan anti *spasmodicum* (menenangkan kekejangan otot) (Darwis *et al*, 1991; Liang *et al*, 1995).

2.1.1 Taksonomi

Adapun klasifikasi biologi dari tanaman temu putih adalah :



Kingdom	: Spermathopyta
Divisi	: Angiospermae
Class	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Species	: <i>Curcuma zedoaria</i> [Berg.] Roscoe
Nama umum	: Temu putih (Heyne, 1987).



Gambar 2.1

Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe
(<http://ccrcfarmasiugm.wordpress.com>)

2.1.2 Morfologi

Adapun morfologinya adalah sebagai berikut (Lihat Gambar 2.1 dan 2.2) :

Habitus : Tumbuh di daerah dengan ketinggian hingga 1.000 m dpl, di tanah berpasir dan berdrainase baik. Tinggi tanaman 60—90 cm. Baunya seperti kapur barus dengan rasa hangat, aroma agak keras, agak pahit, menyerupai jahe.

Batang : Batangnya merupakan batang semu yang dibentuk dari pelepah-pelepah daun yang tumbuh dari rimpangnya.

Daun : Daun berbentuk panjang, lonjong, dengan ujung meruncing. Panjang pelepah daun 35-60 cm. Daun tak berbulu dan hijau dengan tulang daun ungu, pertulangan menyirip, sisik kiri-kanan ibu tulang daun

terdapat semacam pita memanjang berwarna merah gelap atau lembayaung, panjang 25-70 cm, lebar 8-15 cm. Daun muncul sampai 8 daun.

Bunga : Bunga majemuk berbentuk bulir yang tandannya keluar langsung dari rimpang, panjang tandan 20-25 cm, bunga mekar secara bergiliran dari kantong-kantong daun pelindung yang besar. Mahkota bunga berwarna putih dengan garis tepi merah tipis.

Buah : Buah kapsul membulat telur, halus, merekah tidak teratur.

Biji : Biji menjorong, abu-abu, bentuknya lonjong, berselaput, ujungnya bewarna putih.

Rimpang : Rimpang induk bentuknya jorong membulat dan mengeluarkan rimpang cabang yang cukup banyak dan tumbuh kearah samping, ukurannya lebih kecil, bentuknya memanjang dan mudah dipatahkan. Dari rimpangnya keluar akar-akar yang kaku dan pada ujungnya terdapat kantong air. Warna rimpangnya putih dengan hati yang berwarna kuning muda. Bentuk buah bundar, berserat, segitiga, kulitnya lunak dan tipis (Salim, 2008).



Gambar 2.2

Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe<http://ndesoz.wordpress.com>

2.1.3 Habitat dan Sebaran

Temu putih tumbuh di kondisi iklim dengan kisaran yang luas di daerah tropik serta Asia Tenggara. Jenis tersebut lebih menyukai daerah-daerah dengan curah hujan musiman 900-1250 mm dengan musim kering yang pasti, dan ditemukan di tempat-tempat basah yang rindang dengan ketinggian dapat mencapai 1000 m dpl. Temu putih juga dapat tumbuh pada semua macam tipe tanah, tetapi lebih menyukai tanah berpasir dengan drainase bagus (Sarmoko, 2010).

Temu putih diduga berasal dari India timur laut. Budidayanya tersebar hingga Asia Selatan, Asia Tenggara, bahkan Cina dan Taiwan. Meski ada yang mengatakan ia tanaman asli India dan Indonesia. Tanaman ini tumbuh liar di Sumatra (Gunung Dempo), di hutan jati Jawa Timur, banyak dijumpai di Jawa Barat dan Jawa Tengah (Sarmoko, 2010).

2.1.4 Kandungan Kimia Rimpang Temu Putih

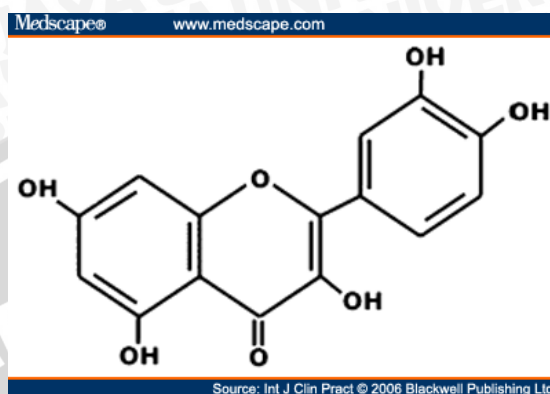
Rimpang temu putih mengandung 1,0-2,50% minyak atsiri yang terdiri dari monoterpen dan seskuiterpen sebagai komponen utamanya. Minyak atsiri tersebut mengandung lebih dari 20 komponen, diantaranya kurzerenon (zedoarin) yang merupakan komponen terbesar, kurkumin, epikurminol yang berkhasiat sebagai antitumor, kurkuminol yang berkhasiat sebagai hepatoprotektor. Selain minyak atsiri, dalam temu putih juga terkandung zat pati, damar, mineral, lemak, saponin, senyawa fenol yaitu flavonoid dan tanin (Syukur, 2004).

2.1.5 Daya Antibakteri rimpang Temu Putih

2.1.5.1 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbanyak terdapat di alam. Senyawa-senyawa ini bertanggung jawab terhadap zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning dalam tumbuhan. Semua flavonoid menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk "flavon" yakni nama sejenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan juga lazim ditemukan, yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan. Sebagian besar flavonoid yang terdapat pada tumbuhan terikat pada molekul gula sebagai glikosida, dan dalam bentuk campuran, jarang sekali dijumpai berupa senyawa tunggal. Flavonoid bisa diekstraksi dengan menggunakan pelarut air, dan etanol. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga baik untuk mencegah kanker (Waji dkk., 2009). Flavonoid juga berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang

mengganggu integritas dan sintesis membran sel bakteri. Selain itu flavonoid yang bersifat lipofilik dapat merusak membran bakteri (Cowan, 1999).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid

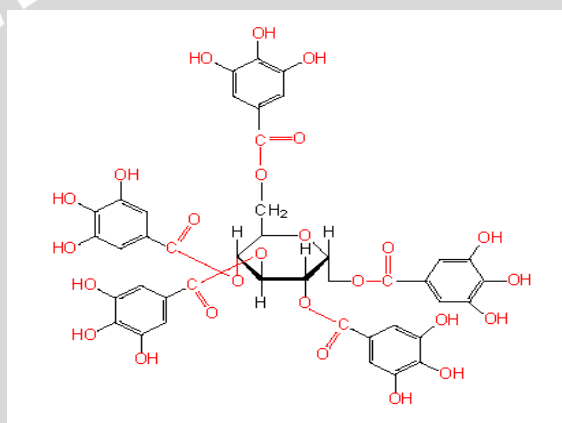
(www.medscape.com)

2.1.5.1.2 Tanin

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa fenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Tanin terdistribusi atau tersebar hampir pada seluruh bagian tumbuhan, seperti pada daun, batang, kulit kayu, dan buah. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin terhidrolisis (*hydrolysable tannins*). Tanin terkondensasi biasanya tidak dapat dihidrolisis, melainkan terkondensasi di mana menghasilkan asam klorida. Sedangkan tanin terhidrolisis biasanya berikatan dengan karbohidrat yang dapat membentuk jembatan oksigen, sehingga dapat dihidrolisis dengan menggunakan asam sulfat atau asam klorida (Hada, 2012). Tanin terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks, dibangun dari elemen C, H, dan O. Tanin diketahui mempunyai beberapa khasiat, yaitu sebagai *astringent*, anti diare, antibakteri dan antioksidan. Tanin disebut juga asam tanat dan asam galotanat.

Sifat-sifat tanin :

1. Dalam air membentuk larutan koloidal yang bereaksi asam.
2. Mengendapkan larutan gelatin dan larutan alkaloid.
3. Tidak dapat mengkristal.
4. Mengendapkan protein dan bersenyawa dengan protein tersebut sehingga tidak dipengaruhi oleh enzim proteolitik (Nadjeeb, 2009).



Gambar 2.4 Struktur Kimia Tanin

(<http://arsenada.blogspot.com201207tanin.html>)

2.1.5.1.3 Saponin

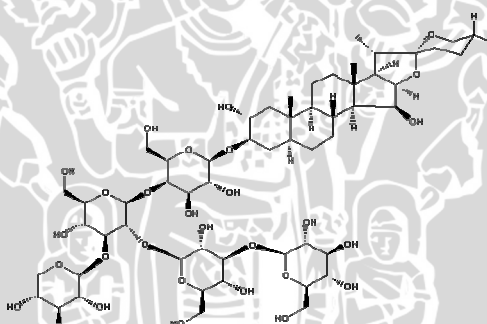
Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter (Rao, 1996). Saponin diklasifikasikan menjadi 2 yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat. Tipe saponin ini memiliki efek anti jamur. Sedangkan saponin triterpenoid (C 30) tersusun atas inti triterpenoid

dengan molekul karbohidrat (Hartono, 2009). Saponin memiliki efek antibakteri.

Secara umum mekanisme antibakteri saponin yaitu dengan :

1. Menghambat pembentukan protein
2. Menghambat pembentukan DNA
3. Merusak dinding sel (Nadjeeb, 2009).

Selain itu saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran bakteri (Dwidjoseputro, 1994).



Gambar 2.5 Struktur Kimia Saponin
(<http://daundewa-aginur.blogspot.com>)

2.1.6 Khasiat dan Kegunaan Temu Putih

Di Indonesia, jantung buah muda digunakan sebagai sayuran (dalam keadaan segar atau dikukus), bagian-bagian rimpang muda (ujung) dapat dimakan dalam kondisi segar, sedangkan bunganya dapat dikukus lebih dulu. Temu putih kerap ditumbuk dan dicampur dengan jahe atau kunyit untuk membuat pasta bumbu kari. Di India dan Indonesia, daunnya dapat digunakan

untuk bumbu makanan, selain itu di India rimpangnya digunakan dalam pembuatan minyak wangi. Di Cina, temu putih telah lama digunakan dalam terapi kanker rahim (Wardiyono, 2011).

Temu putih berkhasiat menetralkan racun, menghilangkan rasa nyeri sendi, menurunkan kadar kolesterol darah, antibakteri dan sebagai antioksidan alami penangkal senyawa-senyawa radikal bebas yang berbahaya. Tanaman ini juga banyak digunakan sebagai obat sakit perut, antidiare, antimual, antipiretik, dan pembersih bagi wanita usai melahirkan. Bagi yang mengalami halitosis (bau mulut), dapat diatasi dengan mengunyah rimpang temu putih (Prosea, 2008).

2.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli pertama kali diidentifikasi oleh dokter hewan Jerman, Theodor Escherich dalam studinya mengenai sistem pencernaan pada bayi hewan. Pada 1885, beliau menggambarkan organisme ini sebagai komunitas bakteri coli dengan membangun segala perlengkapan patogenitasnya di infeksi saluran pencernaan. Nama "*Bacterium coli*" sering digunakan sampai pada tahun 1991. Ketika Castellani dan Chalames menemukan genus *Escherichia* dan menyusun tipe spesies *E. coli*. Bakteri ini termasuk ke dalam family *Enterobacteriaceae* (Collier, 1998).

2.2.1 Taksonomi

Domain	: Bacteria
Filum	: Proterobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Brooks et al., 2001)

2.2.2 Morfologi dan Sifat Umum

Escherichia coli dari anggota family *Enterobacteriaceae*. Ukuran sel dengan panjang 2,0–6,0 μm , lebar 1,1–1,5 μm , dan mempunyai bentuk batang pendek, berwarna merah (gram negatif) (Gambar 2.6 a), bersifat motil dengan flagel peritrich (Gambar 2.6 b). *E. coli* tidak memiliki spora dan biasanya tidak berkapsul. Bakteri ini bersifat aerob dan juga aerob fakultatif. *E. coli* hidup secara komensal dalam kolon manusia dan diduga berperan dalam pembentukan vitamin K yang berperan penting untuk pembekuan darah (Jawetz et al., 2002). *E. Coli* memiliki fimbria / pili yang bertanggung jawab pada perlekatan antar sel hospes dan bakteriofaga. Dinding sel terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS), semuanya tersusun menjadi lapisan-lapisan. Lapisan murein-lipoprotein merupakan 20% dari dinding yang bertanggung jawab

pada rigiditas seluler. Sisanya 80% berikatan dengan lipid dari lipoprotein untuk membentuk *lipid bilayer* (Dzen dkk., 2003).



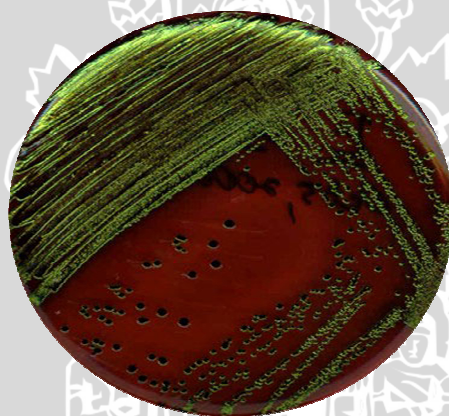
Gambar 2.6

- a) *Escherichia coli*, bakteri batang, gram negatif
(Sumber : capturingthepenguin.blogspot.com)
- b.) *Escherichia coli*, pada mikroskop elektron
(Sumber : www.myhealing.wordpress.com)

Escherichia coli membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus. *E. coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral. Di dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswarna, 1995).

2.2.3 Ciri-ciri Pertumbuhan

Escherichia coli memberikan hasil positif pada tes indol, lisin dekarboksilase dan fermentasi manitol, serta memproduksi gas dari glukosa. Isolat dari urin dengan cepat dapat diidentifikasi sebagai *E. coli* karena kemampuannya memberi hemolisis tipe beta pada agar darah, morfologi koloni yang seperti kilatan logam (*metallic sheen*) pada media diferensial agar EMB dan tes spot indole yang positif. Sedangkan isolat dari tempat lain seperti feses, seringkali dapat dikonfirmasi sebagai *E. coli* dengan tes MUG positif. Lebih dari 90% isolat *E. coli* memberikan hasil positif untuk β -glukoronidase menggunakan substrat 4-methyl-umbelliferyl- β -glucoronide (MUG) (Jawetz et al., 2002).



Gambar 2.7 *Metallic Sheen E.coli* pada medium EMB

(Sumber: microbiology2420.blogspot.com)

2.2.4 Struktur Antigen

Pembagian *E. coli* berdasarkan reaksi serologis terutama di tentukan atas tipe Antigen O, Antigen H, dan apabila di mungkinkan dengan tipe antigen K.

2.2.4 1 Somatik atau antigen O

Dituliskan menggunakan numeral Arabik sebagai contoh, O33 (Carter, 2004). Antigen O merupakan bagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan

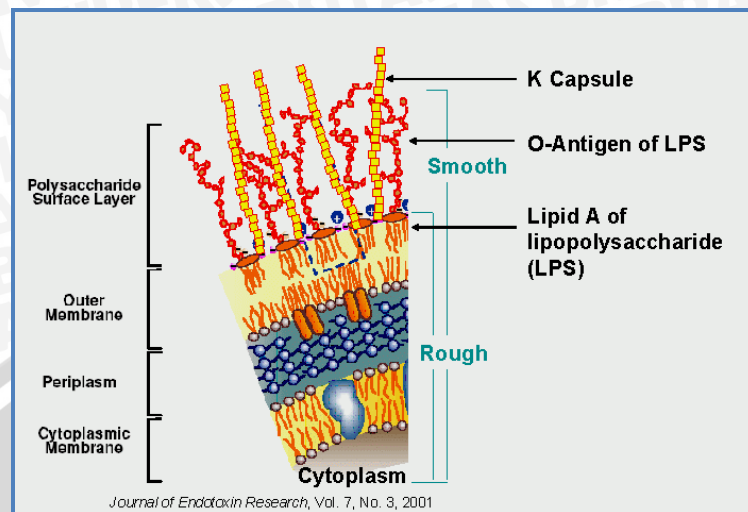
terdiri unit berulang lipopolisakarida. Antigen O tahan terhadap panas dan alkohol dan biasanya dideteksi dengan cara aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Biasanya antigen O berhubungan dengan penyakit khusus pada manusia, misalnya tipe spesifik O dari *E. coli* ditemukan pada diare dan infeksi saluran kemih (Brooks et al., 2001).

2.2.4.2 Antigen K (permukaan atau amplop)

Ada lebih dari 80 Antigen K yang berbeda-beda. Dituliskan menggunakan numeral Arabik; contoh, K4. Antigen K merupakan bagian luar dari antigen O. Antigen K dari *E. coli* berupa senyawa protein (bukan polisakarida) dan membentuk suatu fimbria. Antigen K dapat berpengaruh pada reaksi aglutinasi dengan antisera O dan dihubungkan dengan mekanisme virulensi, misalnya strain *E. coli* yang memproduksi K1 merupakan penyebab utama pada meningitis neonatal (Brooks, 1995).

2.2.4.3. Antigen H atau flagella

Ditulis dengan H diikuti dengan numeral Arabik; contoh, H2. Apabila tidak ada flagella, dituliskan dengan NM (*nonmotil*). Antigen H terletak pada flagella dan dapat didenaturasi atau dihilangkan oleh panas atau alkohol. Antigen ini dapat diawetkan dengan pemberian formalin pada varian bakteri yang motil. Antigen H dapat di aglutinasikan oleh anti-H antibodi terutama IgG (Dzen dkk., 2003; Brooks, 1995).



Gambar 2.8 Struktur antigen *Escherichia coli* (Journal of Endocrin Research, 2001)

Faktor penentu patogenisitas bakteri :

1. Antigen K (Kapsul Asam polisialat)

Antigen ini identik dengan kapsul polisakarida grup B dari *Neisseria Meningitidis*, tahan terhadap proses pembunuhan baik oleh neutrofil maupun serum normal manusia. Ag K1 didapatkan pada 80% *E. coli* yang diisolasi dari penderita-penderita meningitis baik di Amerika Serikat maupun Eropa. Organisme yang mempunyai tipe kapsul ini juga lebih memungkinkan untuk menyebabkan sepsis pada neonatus. K1 juga bisa membantu kelangsungan hidup mikroorganisme dalam darah dan cairan spinal neonatus karena kemiripannya dengan bentuk embrionik asam polisialat dari *neural cell adhesion molecule* (NCAM) (Dzen dkk., 2003).

2. Enterotoksin

Organ sasaran dari enterotoksin *E. coli* adalah usus kecil, dan hasilnya berupa diare sebagai akibat dari pengeluaran cairan dan elektrolit. Kemampuan

untuk memproduksi toksin ini terutama tergantung oleh adanya plasmid yang menyandi produksi toksin.

Galur *E. coli* yang memiliki plasmid tertentu akan memproduksi *heat-labile enterotoksin* (LT) yang mirip enterotoksi dari *Vibrio Cholera*. Seperti pada toksin kolera (*cholerae toxin*) CT, LT merangsang aktivitas adenilsiklase dalam sel epitel mukosa usus halus, yang kemudian akan meningkatkan permeabilitas permukaan intestinal, menyebabkan pengeluaran cairan dan elektrolit (Dzen dkk., 2003).

3. Verotoksin

Sejumlah galur *E. coli* yang diinfeksi oleh *bakteriophage* dapat memproduksi sitotoksin yang disebut verotoksin. Namun, mayoritas VTEC yang dapat diisolasi dari suatu kejadian luar biasa di Amerika dan Kanada adalah serotipe O157;H7. Disebut verotoksin karena efek sitotoksiknya yang menetap pada kultur sel dari jaringan Vero (lapisan sel yang berasal dari sel ginjal kera). Karena kemiripannya dengan shigatoksin, verotoksin disebut juga *shiga liketoksin* (SLT). VTEC berhubungan dengan tiga sindroma pada manusia, yaitu diare, kolitis, dan *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) (Dzen dkk., 2003).

2.2.5 Manifestasi Klinis

2.2.5.1 Diare

E. coli yang menyebabkan diare sangat sering ditemukan di seluruh dunia. *E. coli* ini diklasifikasikan oleh ciri khas sifat – sifat virulensinya dan setiap grup menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda, antara lain:

***E. coli* Enteropatogenik (EPEC)**

EPEC menyebabkan diare pada bayi atau anak – anak kurang dari 1 tahun dan jarang pada orang dewasa dengan gejala berupa demam yang tidak tinggi, muntah, malaise dan diare. Biasanya dapat sembuh sendiri namun dapat pula menjadi kronik. Sel EPEC invasif (jika memasuki sel inang) dan menyebabkan radang. *E. coli* tipe enteropatogenik melekat pada mukosa usus dan mengubah kapasitas absorpsi usus yang nantinya mengakibatkan muntah, diare, nyeri abdomen serta demam (Naim, 2011).

***E. coli* Enterotoksigenik (ETEC)**

Golongan ETEC merupakan penyebab diare enterotoksigenik pada mamalia, seperti anak sapi, anak babi, dan anak domba. Gejala klinis yang terjadi antara lain diare, dehidrasi, asidosis, bahkan kematian. Faktor virulensi yang digunakan untuk identifikasi ETEC adalah enterotoksin dan antigen pili (fimbriae). Enterotoksin ETEC berupa toksin labil panas (*heat-labile toxins/ LT*) dan toksin stabil panas (*heat-stabile toxins/ ST*). ETEC dapat menghasilkan satu atau dua enterotoksin tergantung pada plasmid (massa DNA ekstra kromosom). Makhluk hidup yang terinfeksi bakteri mengandung kedua plasmid biasanya mengalami diare yang lebih berat dan lebih lama. Enterotoksin akan diabsorpsi oleh sel epitel yeyunum dan ileum serta dapat merusak motilitas usus sehingga memfasilitasi keberadaan ETEC di dalam lumen usus (IPB, 2004).

***E. coli* Enterohemoragik (EHEC)**

EHEC menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksiknya pada sel vero, suatu ginjal dari monyet hijau Afrika. EHEC berhubungan dengan kolitis

hemoragik, bentuk diare yang berat dan dengan sindroma uremia hemolitik, suatu penyakit akibat gagal ginjal akut, anemia hemolitik, dan trombositopenia. Gejalanya kram abdomen, diare cair yang dapat berubah menjadi diare berdarah (kolitis hemoragik). Demam dan muntah juga dapat terjadi (Prosea, 2008).

***E. coli* Enteroinvansif (EIEC)**

EIEC menimbulkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit yang paling sering pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju negara tersebut. Galur EIEC bersifat non-laktosa atau melakukan fermentasi laktosa dengan lambat serta bersifat tidak dapat bergerak. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus (Jawetz *et al.*, 2001).

***E. coli* Enteroagregatif (EAEC)**

Menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang. EAEC memproduksi hemolisin dan ST enterotoksin yang sama dengan ETEC (Jawetz *et al.*, 2001).

2.2.5.2 Infeksi saluran kemih

Penyebab yang paling lazim dari infeksi saluran kemih dan merupakan penyebab infeksi saluran kemih pertama pada kira – kira 90% wanita muda. Gejala dan tanda-tandanya antara lain sering kencing, disuria, hematuria, dan pyuria. Nyeri pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas (Jawetz *et al.*, 1996). Tak satupun dari gejala atau tanda-tanda ini bersifat khusus untuk bakteri *E. coli*. Infeksi saluran kemih dapat mengakibatkan bakterimia dengan tanda-tanda khusus sepsis. Infeksi saluran kemih misalnya

sistitis, pielitis dan pielonefritis. Infeksi dapat terjadi akibat sumbatan saluran kemih karena adanya pembesaran prostat, dan kehamilan (Boel, 2004).

2.2 5.3 Sepsis

Bila pertahanan inang normal tidak mencukupi, *E. coli* dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan sepsis. Bayi yang baru lahir dapat sangat rentan terhadap sepsis *E. coli* karena tidak memiliki antibodi IgM. Sepsis dapat terjadi akibat infeksi saluran kemih (Jawetz *et al.*, 2001).

2.2.5.4 Meningitis

Escherichia coli merupakan salah satu penyebab utama meningitis pada bayi. *E. coli* dari kasus meningitis ini mempunyai antigen K. Mekanisme virulensi yang berhubungan dengan antigen K tidak diketahui (Jawetz *et al.*, 2001).

2.3 Bahan Antibakteri

2.3.1 Mekanisme Umum Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yaitu germisid (membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan yang hidup), bakterisid (membunuh bakteri), bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri), antiseptik, desinfektan (Pelczar and Chan, 1988).

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM. Mekanisme antibakteri yang bersifat bakterisid masih tergantung dari kesanggupan reaksi daya tahan tubuh hospes. Peranan lamanya kontak antara bakteri dengan antibakteri dalam kadar efektif juga sangat menentukan untuk mendapatkan efek (Haptiasari, 2009).

Mekanisme antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima cara, diantaranya:

- a. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel
- b. Penghambatan terhadap fungsi membran sel
- c. Penghambatan terhadap sintesis protein
- d. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat
- e. Menghambat metabolisme sel bakteri (Jawetz *et al.*, 2001).

Secara umum, sebaiknya antibakteri mempunyai sifat-sifat sebagai berikut :

- ✓ Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak hospes.
- ✓ Bersifat bakterisidal dan bukan bakteriostatik.
- ✓ Tidak menyebabkan resistensi pada bakteri.
- ✓ Berspektrum luas.
- ✓ Tidak bersifat alergenik atau tidak menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu yang lama.

- ✓ Tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh, atau eksudat.
- ✓ Kadar bakterisidal di dalam tubuh cepat tercapai dan bertahan untuk waktu lama (Dzen dkk., 2003).

2.3.2 Uji Kepekaan terhadap Antibakteri *in vitro*

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui obat-obat yang paling poten untuk kuman penyebab penyakit terutama penyakit kronis. Pengujian ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

2.3.2.1 Metode Dilusi

Metode dilusi ada 2 cara:

a. Dilusi Tabung

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasi 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 bakteri) adalah KHM (Kadar Hambat Minimal) dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri adalah KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat terhadap bakteri uji. Untuk menentukan KHM obat, dapat juga dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test* (Dzen dkk., 2003).

b. Metode Dilusi Agar

Uji kepekaan antibakteri yang lain adalah dengan menggunakan dilusi agar. Metode dilusi agar digunakan untuk menentukan konsentrasi minimum yang dibutuhkan oleh suatu bahan antibakteri untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme. Cara ini memiliki kelebihan dibandingkan metode lainnya karena fleksibilitasnya. Sebagai contoh, pemakaian medium standar yang biasanya dipakai pada metode ini untuk menguji kepekaan mikroorganisme secara rutin dapat diganti atau ditambah dengan medium lain dan disesuaikan dengan keadaan untuk mendapatkan hasil tes yang akurat terhadap berbagai bakteri yang tidak dapat dites dengan metode difusi cakram. Metode ini juga dapat menguji obat-obatan antibiotik yang berbentuk bubuk. Fleksibilitas lain yang dimiliki metode ini antara lain adalah format hasilnya yang dapat berupa hasil kuantitatif (KHM dalam satuan mikrogram per milimeter) maupun dalam bentuk kategori (*susceptible*, *moderately susceptible*, atau *resisten*), atau dapat menggunakan keduanya. Keuntungan lain penggunaan metode ini adalah kemampuannya untuk mendeteksi berbagai pola resistensi yang mungkin tidak terdeteksi oleh metode difusi cakram (Balows *et al.*, 1991).

Kerugian metode ini adalah lamanya waktu yang dibutuhkan dan ketergantungan terhadap tenaga ahli yang mampu melakukan prosedur pengujian mulai dari persiapan alat-alat, pembuatan medium hingga proses inokulasi (Baron *et al.*, 1994).

2.3.2.2 Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram yang dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz *et al.*, 2005).

Untuk mengevaluai hasil uji kepekaan tersebut, apakah isolat antibakteri sensitive atau resisten terhadap obat, dapat dilakukan dua cara seperti berikut :

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan table standar yang dibuat NCCLS (*'National Commite for Clinical Laboratory Standard'*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sedang, dan resisten.
2. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen dkk., 2003). Kriteria pada metode Joan-Stokes adalah sebagai berikut :

- Sensitif : Yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih luas, sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm terhadap control.
- Intermediet : Yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih besar dari 3 mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil dari 3 mm.
- Resisten : Yaitu radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm (Dzen dkk., 2005).

2.4 Resistensi Bakteri

Timbulnya resistensi bakteri terhadap obat antibakteri pada dasarnya merupakan usaha bakteri agar dapat tetap bertahan hidup.

Ada beberapa mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap antibakteri, antara lain :

- ✓ Bakteri memproduksi enzim yang merusak obat.
- ✓ Bakteri mengubah permeabilitas membran sel.
- ✓ Bakteri mengubah struktur target terhadap obat.
- ✓ Bakteri mengembangkan jalan metabolisme baru.
- ✓ Bakteri mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya, tetapi tidak dipengaruhi oleh obat.
- ✓ Bakteri memperbesar produksi bahan metabolit.

Asal mula terjadinya resistensi bakteri terhadap obat dapat dibagi menjadi dua, yaitu :

- Genetik

Terjadinya resistensi disebabkan oleh perubahan genetik. Beberapa bakteri mengembangkan resistensi genetik melalui proses mutasi dan seleksi.

- Non Genetik

Bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivitas metabolik) biasanya tidak dipengaruhi oleh antibakteri. Bila berubah menjadi aktif kembali, bakteri kembali bersifat sensitif terhadap antibakteri. Keadaan ini dikenal sebagai resistensi non genetik (Jawetz *et al.*, 1996).

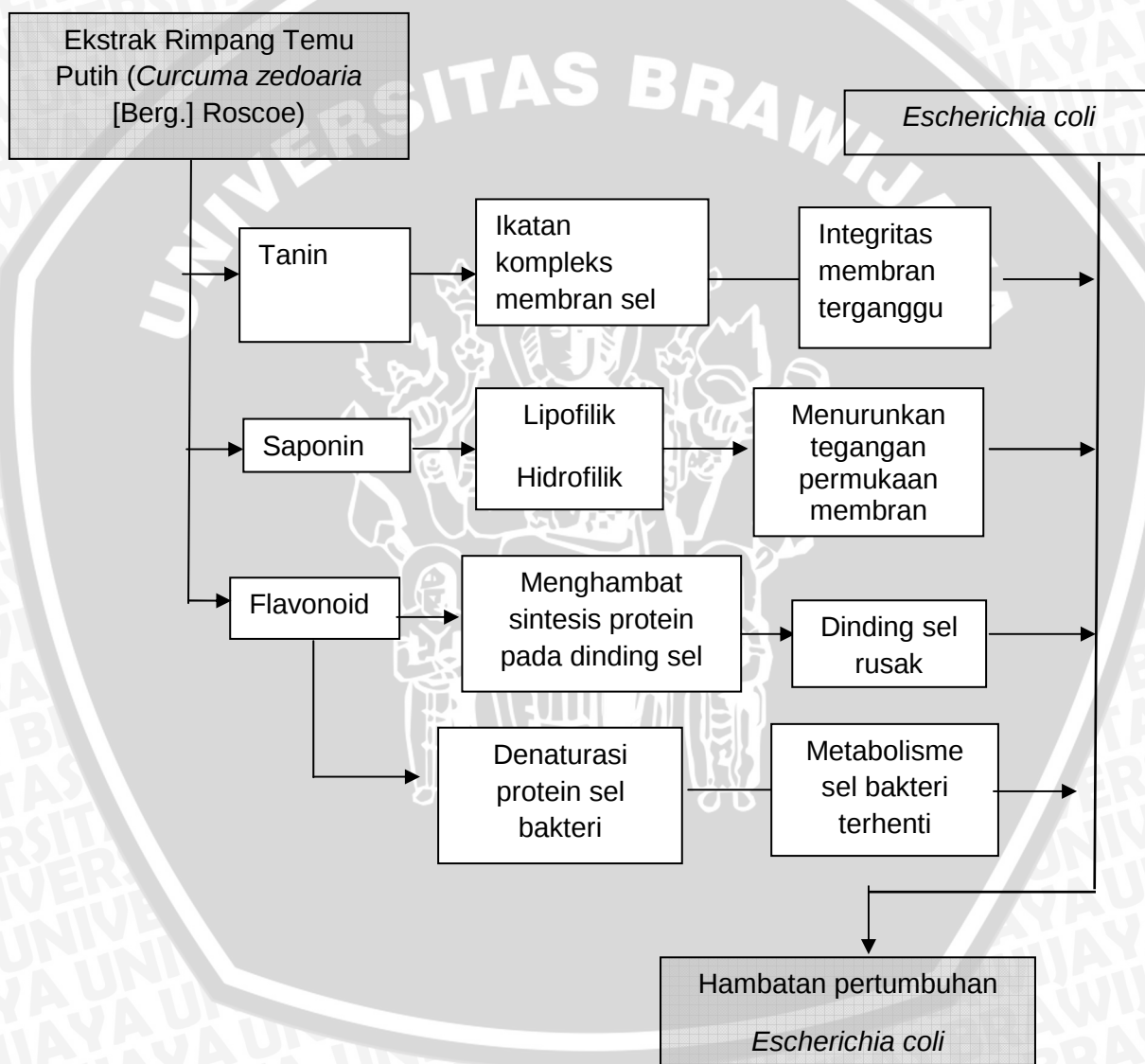
Hal-hal praktis yang menginduksi terjadinya resistensi terhadap antibakteri :

- ✓ Penggunaan antibakteri yang berlebihan oleh para dokter.
- ✓ Penggunaan antibakteri pada penderita immunosupresi untuk mencegah infeksi.
- ✓ Kegagalan penderita untuk menyelesaikan regimen pengobatan dengan antibakteri.
- ✓ Penggunaan antibakteri di dalam bidang peternakan.
- ✓ Perpindahan bakteri yang resisten kedalam area lokasi yang baru (Dzen dkk., 2005).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

 : Variabel yang diteliti

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Ekstrak rimpang temu putih memiliki tiga zat yang bersifat antibakteri, yaitu saponin, senyawa fenolik seperti tanin dan flavonoid. Toksisitas tanin yaitu dengan membentuk ikatan kompleks pada membran sel yang nantinya akan mengganggu integritas membran sel bakteri.

Senyawa saponin dapat larut dalam lemak dan larut dalam air sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran bakteri.

Senyawa flavonoid, bekerja dengan menghambat sintesis protein dinding sel, dan mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri.

3.2 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang, tinjauan pustaka dan kerangka konsep di atas maka dapat di rumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut :

“Ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) mempunyai efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*”.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang dilakukan adalah penelitian *True experimental – Post test only Control Group Design* dengan menggunakan metode dilusi tabung untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro*. Proses pengekstrakan rimpang temu putih menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sedangkan uji kepekaan antibakteri menggunakan metode dilusi tabung meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada MH (*Muller Hinton*) broth untuk menentukan KHM dan tahap *streaking* pada cawan petri untuk menentukan KBM.

4.2 Populasi dan Sampel

Sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Banyaknya pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini dapat di hitung dengan menggunakan rumus :

$$p(n-1) \geq 15 \text{ (Solimun, 2001)}$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$N \geq 4$$

Keterangan :

p = besar sampel

n = jumlah perlakuan

Berdasarkan perhitungan di atas maka jumlah pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini paling sedikit adalah 4.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian adalah konsentrasi larutan ekstrak etanol rimpang temu putih 0% (kontrol positif), 18%, 19%, 20%, 21%, 22% yang diperoleh dari hasil eksplorasi atau penelitian pendahuluan.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung adalah pertumbuhan *Escherichia coli* yang diamati dari tingkat kekeruhan pada MH *broth* dan jumlah koloni pada cawan petri.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang.

4.4.2 Waktu

Penelitian ini dilaksanakan antara bulan Maret-Juni 2012.

4.5 Bahan dan Alat

4.5.1 Untuk Pembuatan Ekstrak

Oven, *evaporator*, timbangan ukur, pendingin spiral / *rotary evaporator*, labu erlenmeyer, selang *water pump*, corong gelas, *water pump*, kertas saring, *waterbath*, labu *evaporator*, *vacum pump*, labu penampung, bubuk rimpang temu putih, air suling, etanol 96%.

4.5.2 Untuk Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri *Escherichia coli*, cawan petri, inkubator, larutan McFarland 0,5, bahan pewarnaan gram: kristal violet, lugol, alkohol 96 %, dan safranin, minyak emersi, ose, mikroskop binokuler.

4.5.3 Untuk Dilusi Tabung

Alat yang digunakan meliputi inkubator dengan suhu 37°C, gelas objek, sentrifus set, ose lurus, ose lengkung, bunsen, lidi kapas steril, tabung reaksi kosong steril, korek api, plate kosong steril, mikropipet, mikroskop, *colony counter* "LAB-LINE", vorteks, spektrofotometri. Bahan yang digunakan antara lain, rimpang temu putih yang dibeli di pasar Jombang dan dipilih rimpang yang sudah cukup tua, isolat bakteri *E. coli* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dari spesimen urine, alkohol 95 %, air suling.

4.5.4 Untuk Streaking pada Cawan Petri

Cawan petri, pembakar bunsen, ose, vorteks

4.6 Definisi Operasional

Di dalam penelitian ini ada beberapa hal yang perlu diketahui, yaitu :

1. Temu putih yang digunakan yaitu spesies *Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe yang sebelumnya telah dilakukan uji identifikasi untuk memastikan spesiesnya di Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya.
2. Rimpang temu putih yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih yang dibeli di pasar Jombang dan dipilih rimpang temu putih yang sudah cukup tua, karena kandungan senyawa metabolik sekundernya lebih tinggi dibandingkan rimpang yang muda.
3. Ekstrak etanol rimpang temu putih merupakan hasil ekstraksi (pengambilan zat-zat aktif suatu bahan) menggunakan pelarut etanol 96% dengan cara maserasi dan evaporasi (pemisahan zat-zat aktif dengan pelarutnya)
4. Bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari bakteri yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang spesimen diambil dari urine.
5. Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah konsentrasi antibakteri terendah yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung) (Forbes et al., 2008), setelah diinkubasikan selama 18-24 jam. Kejernihan larutan ekstrak temu putih

dikonfirmasikan dengan larutan kontrol negatif yang terdiri dari ekstrak rimpang temu putih sebanyak 1 ml.

6. Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah konsentrasi antibakteri terendah yang mampu membunuh *E. coli* (ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada cawan petri atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum*) pada cawan petri yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (Forbes *et al.*, 2008).
7. *Original inoculum* (OI) adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml sebelum diinkubasi yang diinokulasi pada media agar padat dan digunakan untuk mencari kategori KBM.
8. Kontrol positif atau kontrol bakteri adalah sediaan bakteri tanpa penambahan ekstrak rimpang temu putih.
9. Kontrol negatif atau kontrol bahan adalah ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 96% untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Rimpang Temu Putih

Di dalam penelitian ini digunakan bahan uji berupa ekstrak rimpang temu putih yang dibuat dengan cara berikut :

4.7.1.1 Proses Pengeringan

1. Rimpang temu putih dibersihkan dengan cara dicuci dengan air mengalir.

2. Proses selanjutnya adalah mengupas dan mengiris tipis – tipis rimpang temu putih, untuk mempercepat proses pengeringan.
3. Rimpang temu putih di keringkan menggunakan oven dengan suhu 60⁰ C selama kurang lebih 30 menit, hingga terjadi penyusutan dengan kadar air maksimal 10% (Paryanto, 2006). Untuk mengetahui besarnya penyusutan hingga kadar air maksimal 10%, dilakukan dengan menimbang berat rimpang temu putih sebelum dan sesudah dipanaskan dengan oven, maka akan terjadi penurunan berat hingga mencapai berat yang konstan (Arifin dkk., 2006).

4.7.1.2 Proses Ekstraksi

1. Setelah melalui proses pengeringan, rimpang temu putih tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender hingga berbentuk bubuk, lalu diayak.
2. Ditimbang sebanyak 100 gr (sampel kering).
3. Masukkan 100 gr sampel kering ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter.
4. Kemudian rendam dengan etanol hingga volume 600 ml.
5. Kocok sampai benar-benar tercampur ($\pm$ 30 menit).
6. Didiamkan selama 24 jam sampai mengendap.
7. Maserat yang didapat dipisahkan, dilakukan penggantian pelarut dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali.

4.7.1.3 Proses Evaporasi

1. Seluruh hasil maserat etanol 96% dengan zat aktif rimpang temu putih telah terkumpul.
2. Masukkan dalam labu evaporasi 1 liter.
3. Pasang labu evaporasi pada *rotary evaporator*.

4. Isi *water bath* dengan air sampai penuh.
5. Pasang semua rangkaian alat, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath*, (atur sampai 78°C), sambungkan dengan aliran listrik.
6. Biarkan larutan etanol 96% memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
7. Tunggu sampai aliran etanol 96% berhenti menetes pada labu penampung ($\pm$ 1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu).
8. Hasil yang diperoleh kira-kira $\frac{1}{3}$ dari rimpang temu putih kering.
9. Apabila tidak sedang digunakan dalam jangka waktu yang cukup lama maka ekstrak rimpang temu putih tadi dapat disimpan di dalam suatu botol plastik tertutup dan kemudian didiamkan atau disimpan dalam *freezer*.

4.7.2 Preparasi bakteri

4.7.2.1 Tes Konfirmasi bakteri *Escherichia coli*

4.7.2.1.1 Pewarnaan Gram

Prosedur pewarnaan gram :

1. Membersihkan gelas obyek dengan kapas dan lewatkan diatas api untuk menghilangkan lemak. Kemudian biarkan dingin
2. Membuat 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.
3. Sediaan dituangi dengan Kristal Violet. Setelah 1 menit, sediaan dibilas dengan air.

4. Kemudian sediaan dituangi dengan Lugol. Setelah 1 menit, sediaan dibilas dengan air.
5. Sediaan dituangi dengan alkohol 96%. Setelah 5-10 detik, sediaan dibilas dengan air.
6. Sediaan dituangi dengan Safranin. Setelah $\frac{1}{2}$ menit, sediaan dibilas dengan air.
7. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, selanjutnya dilihat dibawah mikroskop dengan obyektif perbesaran 1000x (Dzen dkk., 2003).
8. Bakteri *Escherichia coli* yang teramati di bawah mikroskop berupa batang berwarna merah (gram negatif).

4.7.2.1.2 Media Diferensiasi EMB (*Eosin Methylene Blue*)

1. Membiakkan pada *selenite broth* (1 ose) ditanam pada agar EMB kemudian di inkubasi semalam pada suhu 37°C.
2. Koloni *Escherichia coli* akan memberikan gambaran kilatan logam (*metallic-sheen*) pada agar EMB (Dzen dkk., 2003).

4.7.2.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Suspensi bakteri yang digunakan adalah 10^6 CFU/ml.

- Dilakukan pemeriksaan spektrofotometri pada hasil kultur medium cair *MH broth*, dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui nilai absorbansi dari suspensi.
- Untuk mendapatkan suspensi bakteri uji dengan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 CFU/ml yang setara dengan OD (*Optical Density*) = 0,1 (Dart, 1996), maka dilakukan perhitungan sebagai berikut :

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

Keterangan:

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N_1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

N_2 = OD

Dasar perhitungannya sbb:

Apabila diperoleh OD bakteri hasil spektrofotometri = 1,424 (N_1)

OD bakteri dengan kepadatan 10^8 bakteri /ml = 0,1 (N_2)

Volume keseluruhan dalam 1 tabung = 10 ml (V_2)

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$1,424 \cdot V_1 = 0,1 \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1/1,424 = 0,702 \text{ ml}$$

Suspensi bakteri sebanyak 0,702 ml ditambah dengan NaCl 9,298 ml

→ menjadi suspensi bakteri dengan kepadatan 10^7 bakteri/ml.

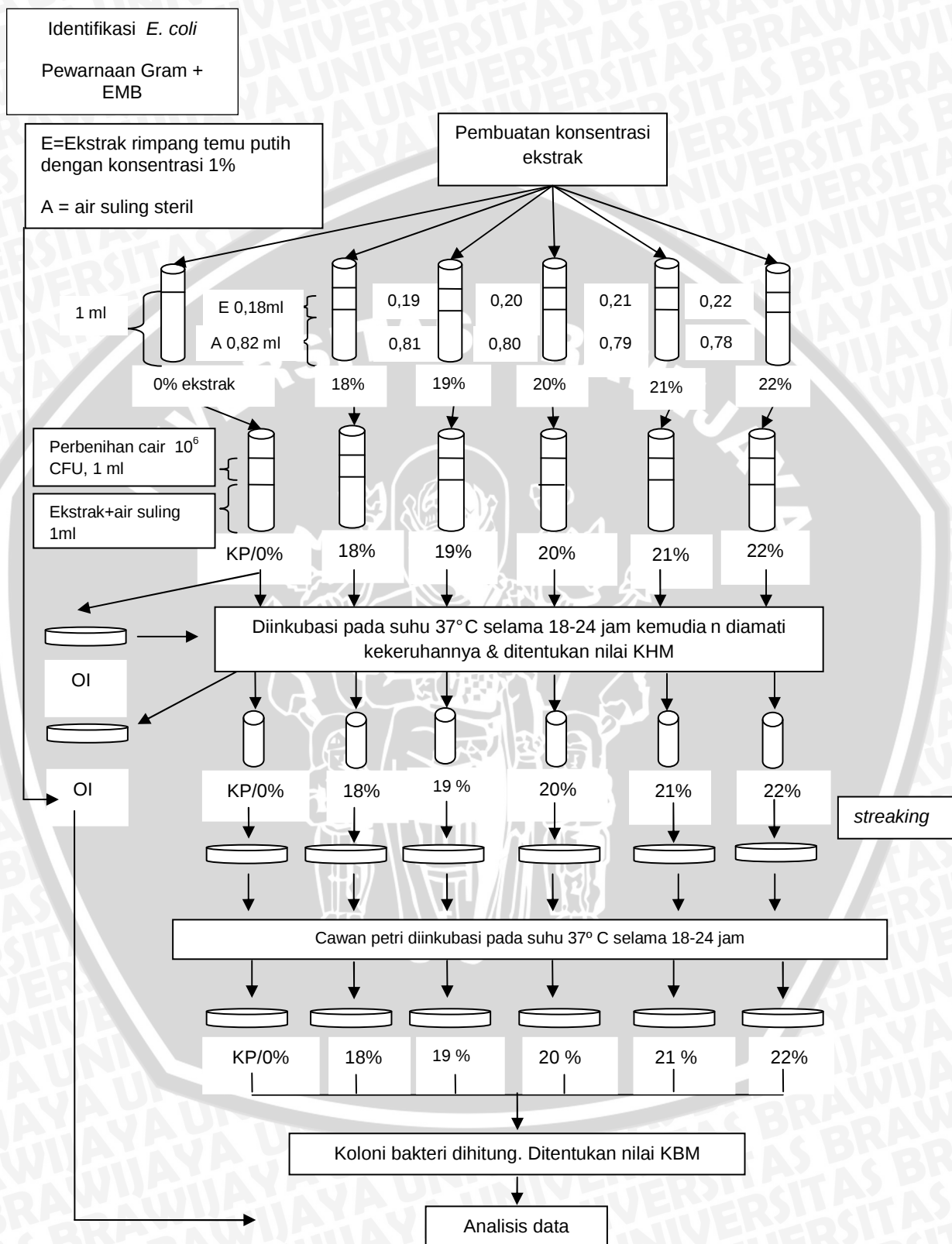
- Selanjutnya dari suspensi bakteri tersebut diambil 1 ml kembali, dicampur dengan *MH broth* 9 ml. Tujuannya agar bakteri mendapatkan nutrisi dari *MH broth* tersebut. Suspensi bakteri dengan kepadatan 10^6 bakteri/ml ini siap digunakan untuk uji sensitivitas bakteri dengan metode dilusi tabung.

4.7.2.3 Pengujian Efek Antimikroba

- Menyediakan tabung kosong steril berjumlah 7 buah.
- Menyediakan air suling dan larutan bakteri uji dengan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml.
- Menyediakan ekstrak etanol rimpang temu putih.
- Menandai dan membuat larutan untuk pengujian efek antibakteri pada tabung 1 sampai tabung 5; adapun larutan antibakteri tersebut dibuat dengan mencampurkan antara ekstrak etanol rimpang temu putih, air suling dan larutan bakteri uji dengan perbandingan sebagai berikut :
 - Tabung 1 : 18% ekstrak etanol rimpang temu putih (0,18 ml) + 0,82 ml air suling + 1 ml larutan bakteri uji.
 - Tabung 2 : 19% ekstrak etanol rimpang temu putih (0,19 ml) + 0,81 ml air suling + 1 ml larutan bakteri uji.
 - Tabung 3 : 20% ekstrak etanol rimpang temu putih (0,20 ml) + 0,80 ml air suling + 1 ml larutan bakteri uji.
 - Tabung 4 : 21% ekstrak etanol rimpang temu putih (0,21 ml) + 0,79 ml air suling + 1 ml larutan bakteri uji.
 - Tabung 5 : 22% ekstrak etanol rimpang temu putih (0,22 ml) + 0,78 ml air suling + 1 ml larutan bakteri uji.
- Memasukkan air suling dan ekstrak etanol rimpang temu putih sesuai konsentrasi yang akan diteliti.
- Ke dalam masing-masing tabung kemudian ditambahkan larutan bakteri uji sebanyak 1 ml.

- Mencampurkan tabung 1 sampai 5 dengan menggunakan vorteks.
- Dua tabung yang masih kosong, masing-masing diisi dengan 1 ml ekstrak etanol rimpang temu putih ditambahkan 1 ml *broth* steril sebagai kontrol negatif dan tabung yang lain diisi dengan 1 ml larutan perbenihan cair bakteri ditambahkan 1 ml air suling steril sebagai kontrol positif.
- Menanam sebanyak satu masa ose (1 μ l) perbenihan cair bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml pada cawan petri untuk membuat *Original Inoculum* (OI).
- Semua tabung dan cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- Memperhatikan dan mencatat pada tabung nomer berapa mulai terjadi kekeruhan. Kadar terendah pada tabung yang menunjukkan tidak ada kekeruhan merupakan Kadar Hambat Minimal (KHM).
- Menghitung koloni pada cawan petri dengan *colony counter* sehingga didapatkan OI sebagai dasar penentuan Kadar Bunuh Minimal (KBM).
- Untuk memperoleh data KBM, dilakukan penanaman isi tabung sebanyak satu mata ose pada cawan petri. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Keesokan harinya dilakukan pengamatan kuantitatif pada masing-masing konsentrasi dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*.



Gambar 4.1 Skema Alur Uji Antibakteri Ekstrak Rimpang Temu Putih Terhadap *E. coli*

4.8 Analisis Data

Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan batas kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Data yang diperoleh yaitu data konsentrasi ekstrak etanol rimpang temu putih dan jumlah koloni bakteri. Analisis yang digunakan adalah uji korelasi, regresi, dan uji *one-way* ANOVA. Uji *one-way* ANOVA digunakan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap pertumbuhan *E. coli*. Langkah-langkah dalam *one-way* ANOVA adalah sebagai berikut:

1. Memeriksa syarat uji ANOVA untuk > 2 kelompok yaitu
 - Sebaran data harus normal
 - Varian data harus sama/homogen
2. Melakukan Analisis *one-way* ANOVA, untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri *E.coli* pada masing-masing perlakuan khususnya yang diakibatkan pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih.

Kemudian dilakukan analisis *Post Hoc Test (Tukey Test)*, untuk mengetahui perlakuan mana saja yang menyebabkan jumlah koloni bakteri *E. coli* menunjukkan perbedaan yang bermakna dan tidak bermakna. Selanjutnya dilakukan Uji Korelasi, untuk mengetahui keeratan hubungan pemberian perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih dengan jumlah koloni bakteri *E. coli* serta uji Regresi untuk memprediksi jumlah koloni *E. coli* terhadap peningkatan dosis ekstrak etanol rimpang temu putih.

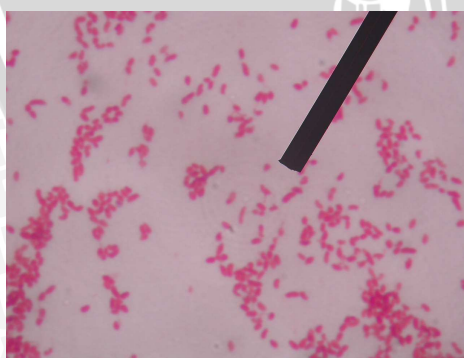
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

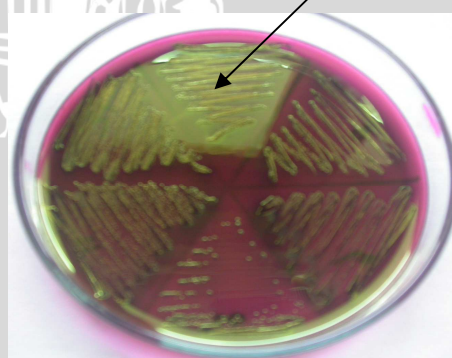
5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi bakteri *Escherichia coli*

Sampel bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari urine pasien yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan Nomor Register 585-U. Uji identifikasi dilakukan terlebih dahulu untuk memastikan kemurnian *E. coli* dari spesimen tersebut. Identifikasi *E. coli* meliputi pemeriksaan secara mikroskopis menggunakan pewarnaan gram dengan pembesaran 1000x di bawah mikroskop. Ditemukan gambaran bakteri berbentuk batang berwarna merah (Gram negatif) (Lihat Gambar 5.1 a.)) dan perbenihan pada agar EMB (*Eosin Methylene Blue*) didapatkan gambaran koloni bakteri mengkilat seperti logam (*Metalic Sheen*) (Lihat Gambar 5.1 b.)).



Gambar 5.1 a.) Pewarnaan Gram tampak pada ujung petunjuk, bakteri berbentuk batang berwarna merah (gram negatif)



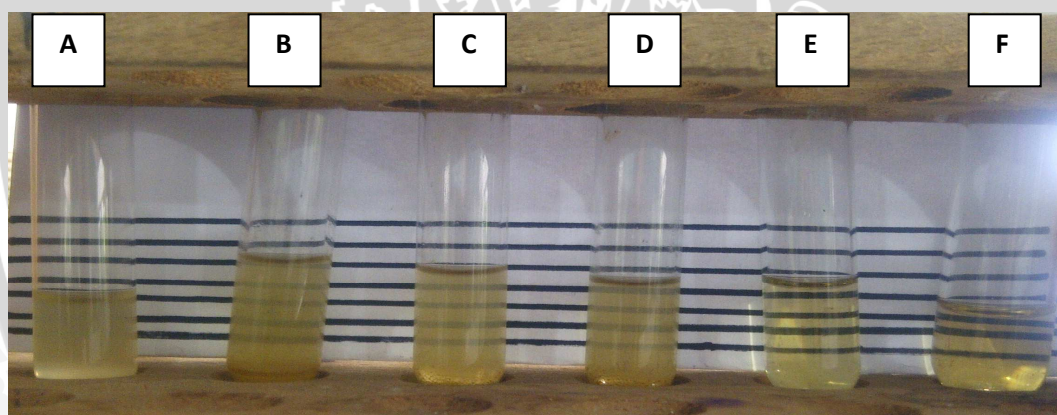
Gambar 5.1 b.) Pada ujung panah, tampak koloni *E.coli* pada EMB seperti kilatan logam (*metalic sheen*)

Gambar 5.1 Uji Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

5.1.2 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri

Escherichia coli

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemungkinan efek antibakteri rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) terhadap *Escherichia coli*. Konsentrasi ekstrak rimpang temu putih, dengan konsentrasi 0% (kontrol positif), 18%, 19%, 20%, 21%, dan 22%. Ekstrak rimpang temu putih berwarna putih kekuningan berbentuk cair. Setelah ditambahkan suspensi bakteri *E. coli* sebanyak 1 ml dan diinkubasikan selama 18-24 jam terdapat perbedaan tingkat kekeruhan pada ekstrak. Efek tersebut diketahui sebagai variabel Kadar Hambat Minimum (KHM).

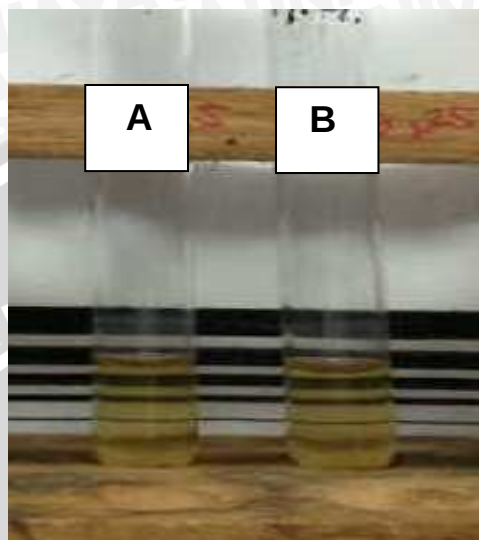


Gambar 5.2 Perbandingan berbagai konsentrasi ekstrak rimpang temu putih dengan tingkat kekeruhan pada dilusi tabung untuk uji KHM

Keterangan gambar :

- A. Kontrol positif : kontrol bakteri dengan konsentrasi ekstrak rimpang temu putih 0% (keruh)
- B. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 18% (keruh)
- C. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 19% (keruh)
- D. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 20% (keruh)
- E. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 21% (jernih)
- F. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 22% (jernih)

Berdasarkan gambar dapat diamati bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka akan terlihat semakin jernih (Gambar 5.2).



Gambar 5.3 Perbandingan Tingkat Kejernihan Antara konsentrasi 21% dengan Kontrol Negatif (Bahan)

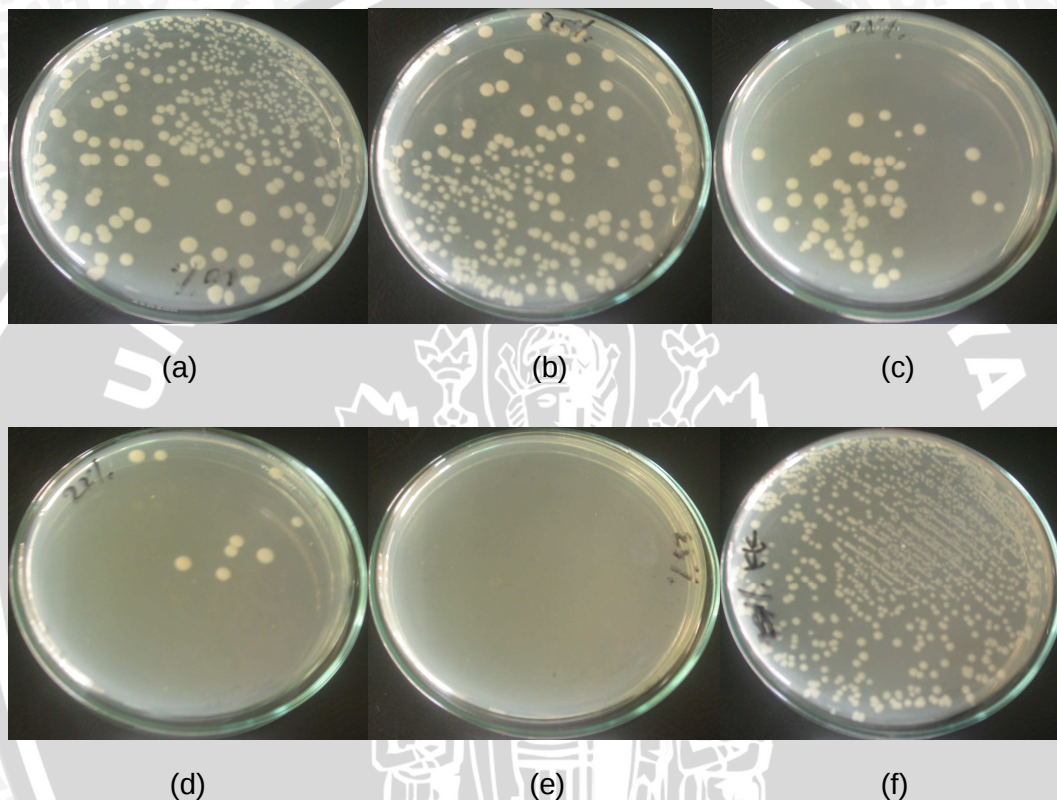
Keterangan gambar:

- A. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 21%
- B. Kontrol negatif (bahan) dengan konsentrasi ekstrak rimpang temu putih 96%

Kontrol bahan digunakan untuk menentukan tingkat kejernihan. Tabung reaksi yang medianya dapat menghambat pertumbuhan bakteri akan menampilkan kejernihan yang sama dengan kontrol bahan. Pada konsentrasi 21% dibandingkan dengan kontrol negatif (bahan) memiliki tingkat kejernihan yang sama (Gambar 5.3), sehingga dapat ditentukan bahwa KHM ekstrak rimpang temu putih terhadap bakteri *E. coli* berada pada konsentrasi 21%.

Selanjutnya, untuk menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM), hasil dilusi tabung tersebut ditanam pada medium cawan petri. Nilai KBM diperoleh dengan menghitung jumlah koloni dalam *plate* /cawan petri dengan menggunakan *colony*

counter "LAB-LINE". Pada penelitian ini didapatkan KBM pada dosis ekstrak 22% (Gambar 5.4 (e)). Pada cawan petri dosis ini, tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni pada keempat pengulangan. Berikut gambar hasil *streaking* :



Gambar 5.4 Streaking *Escherichia coli* pada Cawan Petri

Keterangan gambar :

- Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 18%
- Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 19%
- Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 20%
- Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 21%
- Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 22%
- Kontrol positif : kontrol bakteri dengan konsentrasi ekstrak rimpang temu putih 0%

Selanjutnya pada setiap dosis ekstrak, dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Ini diperlukan untuk mengetahui apakah peningkatan konsentrasi ekstrak memiliki pengaruh signifikan secara statistik terhadap penurunan jumlah koloni.

Jumlah koloni dihitung dengan rumus:

$$(n/g) \times \pi \times r^2 \times \text{jumlah pengenceran} \times 1000 \text{ CFU/ml}$$

Keterangan : n = banyaknya koloni terhitung

π = konstanta bernilai 3.14

r = jari-jari cawan petri (4.5 cm) (Amy, 2012).

Berikut adalah hasil pengamatan jumlah koloni pada berbagai konsentrasi ekstrak :

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Jumlah Koloni *E. coli* pada Cawan Petri

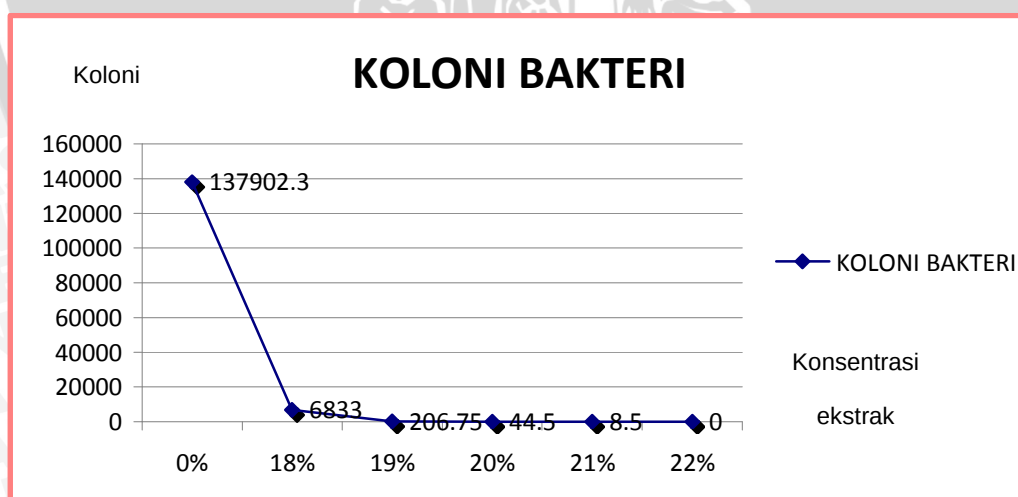
Konsentrasi	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/plate)				Rerata	SD
	1	2	3	4		
0%	131409	143200	132000	145000	137902,3	7198.219
18%	7554	6142	6924	6712	6833	583,165
19%	238	189	172	228	206,75	31,362
20%	39	40	39	60	44,5	10,344
21%	4	11	9	10	8,5	3,109
22%	0	0	0	0	0	0

Pada konsentrasi 0% dan 18% koloni yang tumbuh pada medium cawan petri terlalu rapat sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan penghitungan. Maka tabung pada konsentrasi 0% pada semua pengulangan diencerkan terlebih dahulu dengan larutan NaCl sebanyak 100x dan konsentrasi 18% diencerkan sebanyak 10x sebelum digoreskan pada cawan petri. Kemudian pada setiap

cawan petri dihitung jumlah koloninya dengan menggunakan *colony counter*. Untuk konsentrasi 0% dan 18% penghitungan dilakukan dengan menggunakan perwakilan dari 9 kotak. Jumlah hasil perhitungan tersebut nantinya dibagi 9 kemudian dikalikan dengan luas cawan petri dan pengenceran. Untuk konsentrasi lainnya dihitung semuanya tanpa perlu dikalikan dengan luas dari cawan petri.

$$\begin{aligned} \text{*Original inoculum} &= 257 \times 10^4 \text{ CFU/ml} \\ &= 2,6 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 2,6 \times 10^3 \text{ CFU/cawan petri} \end{aligned}$$

Tampak bahwa terdapat suatu pola di mana semakin tinggi konsentrasi ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe), jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* semakin berkurang. Hal ini nampak lebih jelas pada deskripsi berikut :



Gambar 5.5 Grafik Hasil Jumlah Koloni *Escherichia coli* Tiap Pengulangan terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Rimpang Temu Putih

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Kolmogorov–Smirnov

Untuk menguji apakah sampel memiliki distribusi normal atau tidak, dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan metode Kolmogorov–Smirnov test. Nilai signifikansi $< 0,05$ menunjukkan distribusi data tidak normal, maka dilakukan transformasi data dengan melakukan logaritma terhadap data jumlah koloni. Sedangkan jika nilai signifikansi $> 0,05$ menunjukkan distribusi data normal maka dapat dilakukan uji beda parametric *one-way* ANOVA. Berdasarkan hasil uji normalitas Kolmogorov–Smirnov, distribusi data jumlah koloni bakteri tidak normal ($p = 0.000$), maka perlu dilakukan transformasi data dengan melakukan logaritma terhadap data jumlah koloni, dan kemudian dianalisis kembali dengan uji normalitas dan homogenitas. Hasil transformasi jumlah koloni terdistribusi normal ($p = 0.610$).

5.2.2 Uji Homogenitas

Untuk mengetahui terdapatnya heterogenitas maka dilakukan uji kesamaan ragam yaitu uji Levene (*Levene test homogeneity of variances*). Nilai signifikansi $< 0,05$ menunjukkan varians data tidak homogen dilakukan transformasi data dengan melakukan logaritma. Jika nilai signifikansi $> 0,05$ menunjukkan varians data homogen, distribusi data normal dan varians data homogen, maka dapat dilakukan uji beda parametric *one-way* ANOVA. Berdasarkan hasil uji homogenitas, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000. Karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa varians data tidak

homogen (heterogen) dan dilakukan transformasi data dengan melakukan logaritma terhadap data jumlah koloni, untuk kemudian dianalisis kembali dengan uji normalitas dan homogenitas. Namun setelah dilakukan transformasi data tetap tidak memenuhi syarat ($p = 0.000$), dengan demikian data tidak bisa diolah dengan menggunakan uji beda parametric *one-way* ANOVA. Sehingga dilakukan uji beda non parametric Kruskal-Wallis sebagai pengganti uji *one-way* ANOVA.

5.2.3 Uji Kruskal–Wallis

Sama halnya dengan uji beda parametric *one-way* ANOVA, uji non parametric Kruskal–Wallis dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri setelah diberikan ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna jika $p < 0.05$. Dari hasil uji Kruskal–Wallis, didapatkan nilai signifikansi ($p = 0.000$), terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan jumlah koloni bakteri setelah diberikan ekstrak pada berbagai konsentrasi atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri. Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan, maka dilakukan analisis *post hoc*. Analisis *post hoc* untuk uji Kruskal-Wallis adalah dengan uji Mann–Whitney antara konsentrasi 0%, 18%, 19%, 20%, 21% dan 22%.

5.2.4 Uji Mann–Whitney

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi Mann-Whitney guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Dikatakan terdapat perbedaan signifikan antar dua dosis jika nilai $P <$

0.05. Dari hasil uji Mann–Whitney, didapatkan nilai signifikansi ($P < 0,05$) pada seluruh dosis yang dibandingkan. Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antara kelompok konsentrasi 0% jika dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan dan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antar semua dosis yang dibandingkan, hal ini menandakan bahwa setiap dosis menghasilkan jumlah koloni bakteri yang berbeda. Adapun tabel ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam lampiran 7.

5.2.5 Uji Korelasi dan Regresi

Untuk mengetahui besarnya hubungan pemberian ekstrak rimpang temu putih sebagai antibakteri terhadap jumlah koloni *E. coli* yang tumbuh di medium NAP, dilakukan uji korelasi. Uji korelasi non parametric Spearman menunjukkan nilai signifikansi ($P\text{-value}$) = 0.000 ($p < 0.05$) dan *correlation coefficient* -0.989 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variable (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). *Spearman correlation coefficient* (r) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi dosis/konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri, serta menunjukkan korelasi yang sangat kuat ($r > 0.799$).

Uji regresi linier merupakan uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui besar pengaruh *independent variable* (ekstrak dengan berbagai konsentrasi) terhadap *dependent variable* (jumlah koloni bakteri). Nilai R^2 (R square) dari tabel *Model summary* menunjukkan bahwa 77.4% ($0.774 \times 100\%$) dari variabel jumlah koloni bakteri dipengaruhi oleh *independent variable* yakni paparan ekstrak. Dengan kata lain sebanyak 77.4% bakteri mati dikarenakan oleh

paparan ekstrak. Persamaan garis regresi menggunakan metode kuadrat terkecil (*least square method*) yang di dapat adalah:

$$y = 1295.033 - 259.45x$$

Keterangan: y = jumlah koloni bakteri;

x = konsentrasi ekstrak

Adapun bentuk kurva dari persamaan regresi akan ditampilkan pada lampiran 8.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek antibakteri rimpang temu putih terhadap *Escherichia coli*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*) untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan dilanjutkan inokulasi pada media *Nutrient Agar Plate* / cawan petri untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rimpang temu putih yang sudah tua, sebab kadungan senyawa metabolik sekundernya lebih tinggi daripada rimpang yang muda. Proses ekstraksinya dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol dipilih sebab bahan aktif yang diduga terdapat pada rimpang temu putih yaitu senyawa flavonoid, saponin dan tanin cenderung larut terhadap etanol (Iis, 2012). Warna dari ekstrak rimpang temu putih adalah putih kekuningan.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari *stock culture* yang disimpan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum digunakan dalam penelitian, bakteri *E. coli* dilakukan identifikasi menggunakan pewarnaan gram. Pada pewarnaan gram dengan pengamatan di bawah mikroskop menggunakan pembesaran 1000x, didapatkan gambaran bakteri yang berbentuk batang dan berwarna merah (Gram negatif) dan perbenihan pada agar EMB (*Eosin Methylene Blue*) didapatkan gambaran khas koloni bakteri mengkilat seperti logam (*Metalic Sheen*) yang menunjukkan bahwa *E. coli* memfermentasikan laktosa.

Pada penelitian ini digunakan kontrol bahan yaitu ekstrak rimpang temu putih dengan konsentrasi 96% dan kontrol bakteri yaitu *E. coli*. Tujuan penggunaan kontrol bahan dan kontrol bakteri adalah sebagai pembanding dengan bakteri yang diberi perlakuan. Pada dilusi tabung, kontrol media (bahan) digunakan untuk menentukan tingkat kejernihan. Tabung reaksi yang medianya dapat menghambat pertumbuhan bakteri akan menampilkan kejernihan yang sama dengan kontrol bahan. Jadi, jika kontrol bahan keruh berarti dalam pengerjaannya tidak aseptis (Sugeng, 2010).

Dalam penelitian ini digunakan lima konsentrasi ekstrak rimpang temu putih, yaitu 18%, 19%, 20%, 21%, 22%. Pemilihan konsentrasi ekstrak tersebut berdasarkan hasil eksplorasi sebelumnya. Dari kelima konsentrasi tersebut didapatkan Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak rimpang temu putih terhadap *Escherichia coli* berada pada konsentrasi 21%. Tabung reaksi yang medianya dapat menghambat pertumbuhan bakteri akan menampilkan kejernihan yang sama dengan kontrol bahan. Pada *streaking* di cawan petri, Kadar Bunuh Minimal (KBM) *E. coli* pada penelitian ini diperoleh pada konsentrasi 22%. Hal ini ditunjukkan dengan tidak ditemukannya koloni *E. coli* pada cawan petri. Konsentrasi ekstrak menunjukkan KBM jika jumlah koloninya $<0,1\%$ dari *original inoculum* pada rata-rata jumlah koloni dari pengulangan 1, pengulangan 2, pengulangan 3, dan pengulangan 4. Sedangkan *original inoculum* bakteri *E. coli* adalah $2,6 \times 10^3$ CFU/plate. Maka dapat ditentukan besar KBM adalah pada konsentrasi 22% ($0,1\%$ dari $2,6 \times 10^3$ adalah $<2,6$; konsentrasi ekstrak yang memenuhi adalah 22%). Jadi, KBM ekstrak rimpang temu putih pada penelitian ini adalah pada konsentrasi 22%.

Dari kelima konsentrasi yang di dapat, dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali dan data jumlah koloni yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik menggunakan software *SPSS 16 for Windows*[®] dengan batas kepercayaan 95%. Artinya, kemungkinan kesalahan hasil penelitian berkisar 5%. Uji statistik yang dipakai yaitu Kruskal-Wallis, Man-Whitney, serta *regresi korelasi*. Berdasarkan Kruskal-Wallis, didapatkan nilai signifikansi ($p = 0.000$) yaitu nilai $p < 0.05$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan jumlah koloni bakteri setelah diberikan ekstrak pada berbagai konsentrasi. Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan, maka dilakukan analisis *post hoc*. Analisis *post hoc* untuk uji Kruskal-Wallis adalah dengan uji Mann-Whitney antara konsentrasi 0%, 18%, 19%, 20%, 21% dan 22%. Dikatakan terdapat perbedaan signifikan antar dua dosis jika nilai $P < 0.05$. Dari uji multi komparasi ini didapatkan pada setiap perbandingan dosis ($p < 0.05$) maka terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antar semua dosis yang dibandingkan, hal ini menandakan bahwa setiap dosis ekstrak rimpang temu putih menghasilkan jumlah koloni bakteri yang berbeda.

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

Uji regresi linier merupakan uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui besar pengaruh *independent variable* (ekstrak dengan berbagai konsentrasi)

terhadap *dependent variable* (jumlah koloni bakteri). Hasil persamaan regresi liniernya adalah $y = 1295.033 - 259.45x$ di mana Y adalah jumlah koloni bakteri *E. coli* yang dihasilkan pada medium NAP, sedangkan X adalah perlakuan pemberian ekstrak rimpang temu putih. Berdasarkan nilai koefisien determinasi didapatkan bahwa 77.4% variasi jumlah koloni *E.coli* dipengaruhi oleh dosis ekstrak rimpang temu putih. Sedangkan 22,6% lainnya dipengaruhi faktor lain yang tidak dapat dikontrol oleh peneliti, seperti waktu penyimpanan ekstrak yang lama sehingga menurunkan daya kerjanya, terjadi resistensi oleh *E. coli* itu sendiri, atau adanya *human error* saat dilakukan penelitian tersebut.

Dari hasil maserasi yang telah dilakukan oleh Rita tahun 2010 menunjukkan bahwa temu putih mengandung triterpenoid sebagai antibakteri, bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *E. coli*. Penelitian dari Wiwik pada tahun 2010 menunjukkan bahwa ekstrak kental kloroform rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Roscoe) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. coli* dengan daya hambat sebesar 1 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, dan 2 mm untuk bakteri *E. coli*. Berdasarkan bukti tersebut, dapat dikatakan bahwa rimpang temu putih memiliki efek antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, namun memberikan efek antibakteri lebih besar pada Gram negatif (Wiwik, 2010).

Penggunaan pelarut etanol 96% untuk melarutkan bahan aktif yang didapat pada rimpang temu putih didasari oleh penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Penelitian tahun 2010 yang dilakukan oleh Hayati menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari buah belimbing wuluh, menunjukkan uji positif pada pengujian flavonoid, tanin dan terpenoid (Latifah 2008). Hal tersebut menunjukkan bahwa etanol memiliki kemampuan menarik senyawa fenolik

seperti flavonoid, dan tanin. Etanol memiliki kemampuan melarutkan bahan aktif yang bersifat polar, semipolar maupun *nonpolar*. Selain itu, pelarut etanol diketahui lebih aman (tidak bersifat toksik) jika dibandingkan dengan pelarut metanol (Paryanto, 2006).

Efek antibakteri rimpang temu putih terhadap bakteri *E. coli* diperkirakan diperankan oleh zat-zat aktif yang larut dalam etanol 96%, yaitu senyawa tanin, saponin, dan flavonoid. Tanin bekerja dengan membentuk ikatan kompleks pada membran sel yang nantinya akan mengganggu integritas membran sel bakteri. Senyawa *astringent* tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Aktivitas flavonoid yaitu mendenaturasi protein sel bakteri yang akhirnya menghentikan metabolisme sel, dan menghambat sintesis protein pada dinding sel yang mengakibatkan rusaknya dinding sel. Sedangkan saponin dapat larut dalam lemak dan larut dalam air sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran bakteri.

Dengan melihat fakta hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah koloni bakteri *E. coli* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan data kandungan bahan aktif ekstrak rimpang temu putih yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak rimpang temu putih terbukti memiliki efek antibakteri terhadap *E. coli*.

Aplikasi klinis yang memungkinkan dari penelitian ini adalah penggunaan ekstrak rimpang temu putih secara oral untuk pengobatan diare akibat infeksi

Escherichia coli. Sedangkan penggunaan secara sistemik, masih memerlukan penelitian lebih lanjut yaitu melalui pengujian pada hewan coba maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Sebelum calon obat baru dicobakan pada manusia, dibutuhkan waktu untuk meneliti sifat farmakodinamik, farmakokinetik dan efek toksiknya pada hewan coba. Dalam studi farmakodinamik ini tercakup pengembangan teknik analisis untuk mengukur kadar senyawa tersebut dan metabolitnya dalam cairan biologis. Semuanya diperlukan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil resiko penelitian pada manusia. Studi toksikologi pada hewan umumnya dilakukan 3 tahap yaitu penelitian toksisitas akut bertujuan mencari besarnya dosis tunggal yang membunuh 50% sekelompok hewan coba (LD50), penelitian toksisitas jangka panjang bertujuan meneliti efek toksik pada hewan coba setelah pemberian obat dalam jangka panjang, penelitian toksisitas khusus meliputi penelitian terhadap sistem reproduksi termasuk teratogenitas, uji karsinogenitas, dan mutagenisitas, serta uji ketergantungan. Sedangkan pengujian pada manusia (uji klinik) terdiri dari uji fase I sampai IV (Setiawati, 2007). Pada dasarnya uji klinik tersebut bertujuan untuk memastikan efikasi, keamanan, dan gambaran efek samping yang sering timbul pada manusia akibat pemberian suatu obat (Setiawati, 2007), dalam hal ini adalah obat yang berasal dari rimpang temu putih.

Keterbatasan penelitian ini antara lain tidak dapat mengetahui jumlah pasti masing-masing bahan aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi. Bahan aktif tersebut dapat bekerja sendiri-sendiri ataupun bersama-sama untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Selain itu adanya variasi biologis dari masing-masing spesies rimpang temu putih juga dapat mempengaruhi jumlah bahan aktif antimikroba. Sebagai misal, rimpang temu putih yang tumbuh di

daerah X dapat memiliki kandungan yang berbeda dengan rimpang temu putih yang tumbuh di daerah Y. Faktor lain yang dapat mempengaruhi adalah lamanya masa penyimpanan ekstrak. Oleh karena itu, untuk penelitian-penelitian selanjutnya perlu adanya standarisasi, baik dari pemilihan bahan yang digunakan (rim pang temu putih), dan lamanya masa simpan (jangka waktu ekstrak masih dapat digunakan sebagai antibakteri) sehingga diharapkan apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama. Oleh sebab itu, untuk penerapan langsung di masyarakat, penelitian ini dapat dikatakan masih terlalu dini dan masih membutuhkan banyak penelitian-penelitian lanjutan agar nantinya kandungan antibakteri yang didapatkan pada ekstrak rimpang temu putih ini dapat diaplikasikan secara klinis.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak rimpang temu putih memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak rimpang temu putih maka semakin rendah tingkat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
3. Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap *Escherichia coli* berada pada konsentrasi 21%.
4. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap *Escherichia coli* berada pada konsentrasi 22%.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah:

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui persentase masing-masing bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak rimpang temu putih.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bahan aktif apa yang paling berperan sebagai antimikroba pada ekstrak rimpang temu putih.
3. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek antibakteri rimpang temu putih pada bakteri lain maupun fungi dan virus.
4. Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat efektivitas ekstrak rimpang temu putih secara *in vivo* (hewan coba dan uji klinik) sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.

5. Perlu ada standardisasi dalam pembuatan ekstrak rimpang temu putih maupun dalam pemilihan bahan serta lama masa simpan ekstrak yang masih dapat digunakan sebagai antibakteri.
6. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain, misalnya dengan cara dekok, ataupun ekstraksi dengan metode dan pelarut lain untuk mengetahui kemampuan rimpang temu putih sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*.
7. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap bagian lain dari temu putih untuk bahan antimikroba.



DAFTAR PUSTAKA

Ardiansyah, 2004, Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan, Berita IPTEK. com

Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., Rasyid, R. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr. Jurnal Sains Teknologi Farmasi, 2006, Vol. 11 No. 2.

Amy. 2012. Colony Counter, (Online), (<http://id.scribd.com/doc/87943494/Colony-Counter>), diakses 11 Desember 2012, pukul 17.20 WIB.

Boel, T., 2004. *Infeksi Saluran Kemih dan Kelamin*, USU digital library, Sumatera Utara.

Bronzwaer, SL., Cars, O., Buchhols, U., Molstad, S., Goettsch, W., et al., A European Study on The Relationship between Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance, *Emerging Infectious Disease*, 2002, 8 : 278-282.

Brooks, GF., J.S. Butel, S.A. Morse. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 23, EGC, Jakarta, Hal. 225-231.

Collier, L., 1998, *Microbiology and Microbial Infections*, Edisi 9, Oxford University Press Inc., New York, Hal. 935–939.

Cowan, M.M., 1999, *Plant Products as Antimicrobial Agents*, Vol. 12, Clinical Microbiology Reviews, Hal. 564–582.

Coyle, E.A., and Prince, R.A., 2005, *Urinary Tract Infections and Prostatitis, Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*, DiPiro, J.T., et al., (eds) McGraw-Hill Medical Publishing Division.

Dart, R. K. 1996. *Microbiology for the Analytical Chemist*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. p. 41-48.

Darwis, SN., S. Hiyah dan ABD. Madjo Indo, 1991, Tumbuhan Obat Famili Zingiberaceae, Pusat Pengembangan Tanaman Industri, Bogor.

Dianasari, N. 2009. *Uji aktivitas antibakteri Ekstrak etanol kayu secang (caesalpinia sappan L.) Terhadap staphylococcus aureus dan shigella dysenteriae serta bioautografinya*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Dwidjoseputro, D. 1994, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta.

Dzen, S. M., Roekistiningsih, Santoso, S., Winarsih, S., 2003. *Bakteriologi Medik*, Bayumedia, Malang, Hal. 134-135.

Dzen, S. M., Roekistiningsih, Santoso, S., Winarsih, S., 2005. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Kedokteran*, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Hal. 17, 24-27, 43-44.

Farmasi USD. 2008. *Escherichia coli*, Yogyakarta. Hal. 1-4.

Forbes, Betty A., Sahm D.F., Weissfeld, Alice S., 2008, *Laboratory Methods and Strategies for Antimicrobial Susceptibility Testing* in Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 12th Edition, USA: Elsevier Mosby Company. Chap: 12, p: 187-214.

Ganiswarna, S. G,. 1995. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, UI-Fakultas Kedokteran, Jakarta.

Hada, Y. N., 2012. Tanin, (Online), (<http://arsenada.blogspot.com/2012/07/tanin.html>), diakses 20 November 2012).

Haptiasari, Eriana. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Pepaya (Carica papaya l) terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus Multiresisten Antibiotik*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Hartono, Teguh. 2009. Saponin? Apaan tuh?, (Online), (<http://www.farmasi.asia/saponin/>), diakses 10 Desember 2012, pukul 17.00 WIB.

Heyne, K. 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta.

IPB: Institute Pertanian Bogor. 2004. *Escherichia coli* , Bogor, hal. 7-8.

Jawetz, Melnick, Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 20, EGC, Jakarta, Hal. 238 – 240.

Jawetz, Melnick, Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*, Buku 1, Salemba Medika, Jakarta, Hal. 295-298.

Lathifah, Q A. 2009. *Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Dengan Variasi Pelarut*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi FMIPA UII, Yogyakarta.

Lestari, Iis., 2012. Senyawa Flavonoid | Pengertian dan Definisi, (Online), (<http://scr3.kliksaya.com/adba/111430/kamusq.blogspot.com>), diakses 12 November 2012).

Liang, OB., Y. Wijaya, dan S. Puspa, 1985, Beberapa aspek isolasi identifikasi, dan penggunaan komponen-komponen Curcuma xanthorrhiza Roxb. Dan Curcuma domestika Val. Prosiding simposium nasional temulawak, Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran, Bandung.

Nadjeeb, 2009. Saponin. Nadjeeb's Blog. <http://nadjeeb.wordpress.com/2009/10/31/saponin/+mekanisme+antibakteri+saponin&ct=clnk>. Diakses tanggal 5 Desember 2011, pukul 21.18 WIB.

Naim, N. A., 2011. Escherichia coli-Mikrobiologi, (Online), (<http://nillaaprianinaim.wordpress.com/2011/06/25/escherichia-coli/>), diakses 4 Desember 2011)

Noviana, H. Pola kepekaan antibiotika *Escherichia coli* yang diisolasi dari berbagai spesimen klinis. *Jurnal Kedokteran Trisakti*, 2004, Vol. 23 No. 4.

Parwata I.M.O.A. & Dewi P.F.S. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas (Alpinia Galanga L.)*, *Jurnal Kimia*, 2008, 2 (2): 14.

Paryanto, I. Ekstraksi Kurkuminoid dari Temu Lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) secara Perkolasi dengan Pelarut Etanol. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 2006, Vol. 4 No. 2

Pelczar, 1988, *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, UI Press, Yakarta, Hal. 809 – 812.

Pelczar, M. J, Jr., and Chan, E. C. S, 1986. *Mikrobiologi Dasar*, Edisi Kelima, Jilid I, Sri, R. H., dkk., (penterjemah), tanpa tahun, Universitas Indonesia-Press, Jakarta, Indonesia.

Pelczar, M.J, Jr., and Chan, E.C.S, 1998, *Dasar- Dasar Mikrobiologi II*, Sri, R. H., dkk., (penterjemah), tanpa tahun, Universitas Indonesia-Press, Jakarta, Indonesia.

Prosea: *Plants Resources of South-East Asia*. 2008. *Temu Putih Curcuma zedoaria*, Chinese Medicinal Herbs of Taiwan, Taiwan, hal. 2-4.

Prawesti, Eka Y. D. 2008. *Formulasi tablet kunyah ekstrak rimpang temu putih (Curcuma zedoaria (Berg) Roscoe) dengan Kombinasi Bahan Pengisi Manitol-Laktosa*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Rao, A. V., 1996. *Anticarcinogenic properties of plant Saponin* . Second International Symposium on Role of soy. Brussels, Belgium.

Rita, W. S. *Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid pada Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe)*, Jurnal Kimia 4 (1), 2010, Hal. 20-26.

Salim, A., 2008. *Temu Putih (Curcuma zedoaria [Berg.]Roscoe)*. ABA Herbal. <http://abaherbal.com/?p=42>. Diakses tanggal 2 Desember 2011, pukul 20.05 WIB.

Sarmoko, 2010. *Temu Putih (Curcuma zedoaria)*. CCRC FARMASI UGM. <http://ccrcfarmasiugm.wordpress.com/ensiklopedia/ensiklopedia-tanaman-anti-kanker/t/temu-putih/>. Diakses tanggal 2 Desember 2011, pukul 19.46 WIB.

Setiawati A, Suyatna FD, Gan S. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5 Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. Penerbit Gaya Baru, Jakarta. Hal. 24-25.

Solimun. 2011. *Diktat Metodologi Penelitian LKIP dan PKM Kelompok Agrokompleks*. Malang : Universitas Brawijaya.

Sugeng, 2010. Kadar Hambat Minimum Amoxicylin, (Online), (<http://pharzone.com/blog/50-mikrobiologi/109-penentuan-kadar-hambat-minimum.html>), diakses tanggal 12 November 2012).

Syukur, C. 2004. *Temu Putih Tanaman Obat Antikanker*, Swadaya, Jakarta.

Waji, R A., Sugrani, A.. 2009. *Flavonoid (Quercetin)*. Sripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.

Wardiyono, 2011. *Curcuma zedoaria (Christmann) Roscoe*. Prohati. <http://www.proseanet.org/prohati2/browser.php?docsid=479>. Diakses tanggal 2 Desember 2011, pukul 20.16 WIB.

Lampiran 1

Alat Dan Bahan



Gambar L2.1 Spektrofotometri



Gambar L2.2 Mikroskop



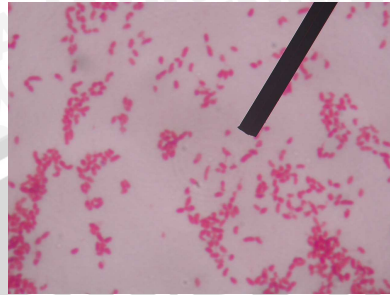
Gambar L2.3 Vortex



Gambar L2.4 Temu Putih

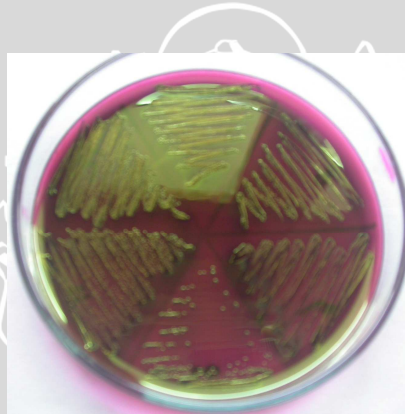
Lampiran 2

Identifikasi Bakteri dan Hasil Penelitian



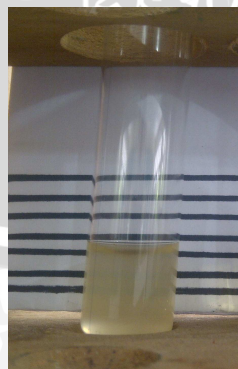
Gambar L3.1 Hasil Pewarnaan Gram

Pada pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, tampak bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang dan berwarna merah (gram negatif)



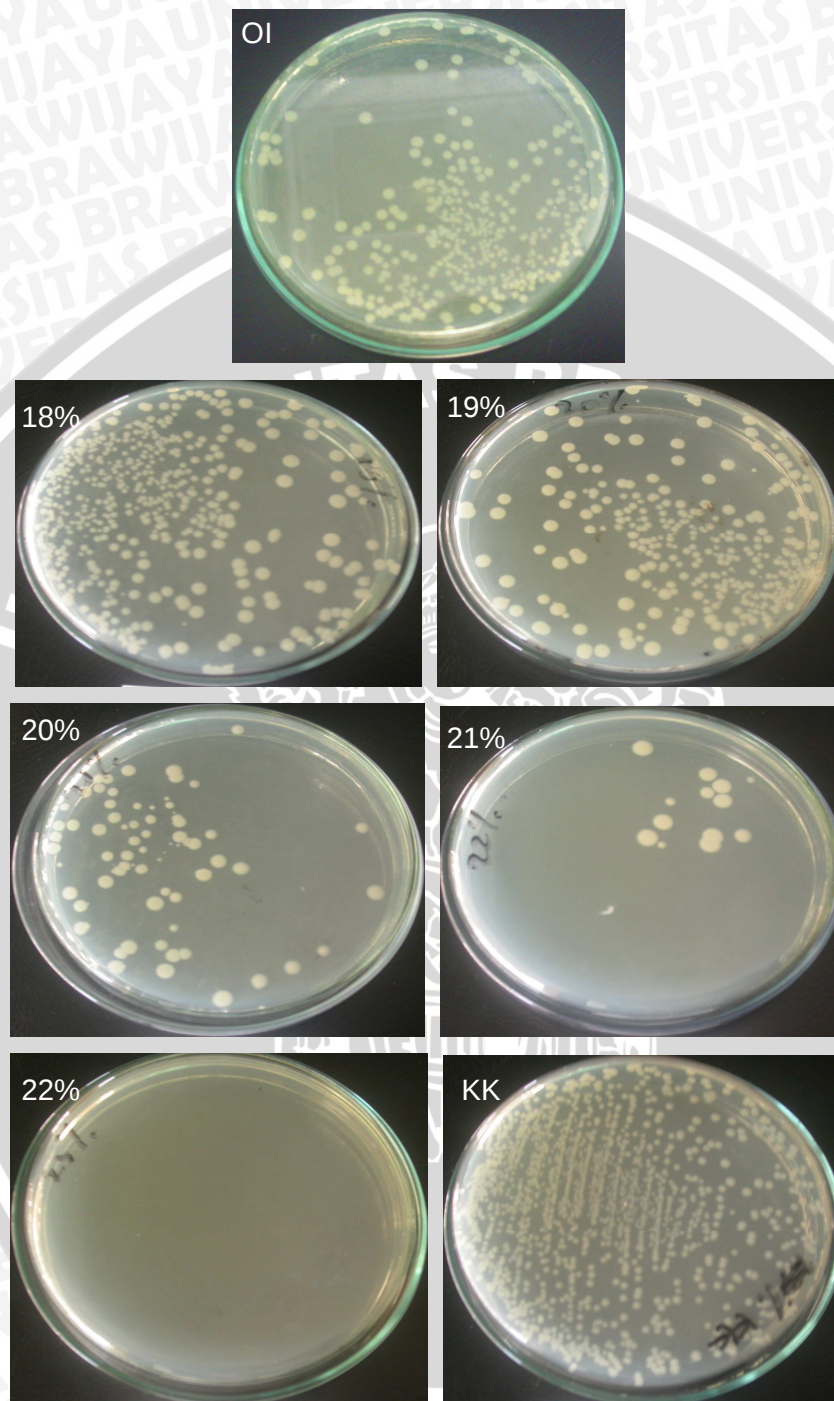
Gambar L3.2 Koloni bakteri pada Medium EMB

Koloni bakteri *Escherichia coli* memberikan gambaran kilatan logam (*Metallic Sheen*)



Gambar L3.3 Hasil Inkubasi (Kontrol Kuman) Bakteri *Escherichia coli*

Kontrol kuman pada dilusi tabung setelah diinkubasi nampak keruh



Gambar L3.4 Hasil Pertumbuhan Koloni *Escherichia coli* Pada Cawan Petri Dengan Konsentrasi 18%; 19%; 20%; 21%; 22%; KK (Kontrol Kuman) = 0%; OI (Original Inoculum)

Gambar ini membuktikan efektifitas ekstrak rimpang temu putih terhadap *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan semakin tinggi dosis maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri *E. coli* yang tumbuh.

Tabel L3.5 Hasil penghitungan jumlah koloni *E. coli* pada Cawan Petri

NO	KONSENTRASI	PENGULANGAN				JUMLAH KOLONI BAKTERI	RATA-RATA KOLONI BAKTERI
		1	2	3	4		
1	0% (KP)	186/9x3,14 x4,5x4,5x10 0= 131409	203/9x3,14 x4,5x4,5x10 0= 143200	187/9x3,14 4x4,5x4,5x 100= 132000	1450/9x4,5 x4,5x100= 145000	551609	137902
2	18%	107/9x3,14 x4,5x4,5x10 = 7554	87/9x3,14x 4,5x4,5x10= 6142	98/9x3,14 x4,5x4,5x1 0= 6924	95/9x3,14x 4,5x4,5x10= 6712	27332	6833
3	19%	238	189	172	228	827	207
4	20%	39	40	39	60	178	45
5	21%	4	11	9	10	34	9
6	22%	0	0	0	0	0	0

Lampiran 3

Identifikasi Tanaman Temu Putih



LABORATORIUM TAKSONOMI, STRUKTUR DAN
PERKEMBANGAN TUMBUHAN
JURUSAN BIOLOGI, FAKULTAS MIPA
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
JALAN VETERAN, MALANG 65145
Telepon/faks: 0341-575841

KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0062/Takso.Identifikasi/03/2012

Kepala Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, menerangkan bahwa spesimen yang dibawa oleh:

Nama : Luh Putu Ayu P. I. (NIM. 0910710091)
Instansi : Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Flora of Java (Backer dan Van den Brink, 1968), volume III, halaman 71, diidentifikasi sebagai:

Familia : Zingiberaceae
Genus : *Curcuma*
Species : *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 10 Oktober 2012

Kepala Laboratorium
Taksonomi, Struktur dan
Perkembangan Tumbuhan,

Dr. Sarifah Indriyani, M.Si.
NIP. 19630909 198802 2 001

Lampiran 4

UJI NORMALITAS DATA JUMLAH KOLONI

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		koloni
N		24
Normal Parameters ^a	Mean	2.42E4
	Std. Deviation	5.209E4
Most Extreme Differences	Absolute	.458
	Positive	.458
	Negative	-.321
Kolmogorov-Smirnov Z		2.246
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000
a. Test distribution is Normal.		

UJI NORMALITAS TRANSFORMASI DATA JUMLAH KOLONI

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		trans_koloni
N		23
Normal Parameters ^a	Mean	2.4042
	Std. Deviation	1.74539
Most Extreme Differences	Absolute	.158
	Positive	.158
	Negative	-.134
Kolmogorov-Smirnov Z		.760
Asymp. Sig. (2-tailed)		.610
a. Test distribution is Normal.		

Lampiran 5

UJI HOMOGENITAS DATA JUMLAH KOLONI

Test of Homogeneity of Variances			
koloni			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
208.599	5	18	.000

UJI HOMOGENITAS TRANSFORMASI DATA JUMLAH KOLONI

Test of Homogeneity of Variances			
trans_koloni			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.809	5	18	.006

Lampiran 6

UJI KRUSKAL WALLIS

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank
koloni	0%	4	22.50
	19%	4	18.50
	20%	4	14.50
	21%	4	10.50
	22%	4	6.50
	23%	4	2.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	Koloni
Chi-Square	22.508
Df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
konsentrasi

Lampiran 7

UJI MULTI KOMPARASI MANN WHITNEY

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	18%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^d

	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: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	19%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	20%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	21%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^d

	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: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	22%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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: konsentrasi

Ranks

	konsent rasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	18%	4	6.50	26.00
	19%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	18%	4	6.50	26.00
	20%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	18%	4	6.50	26.00
	21%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	18%	4	6.50	26.00
	22%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	19%	4	6.50	26.00
	20%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	19%	4	6.50	26.00
	21%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	19%	4	6.50	26.00
	22%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	20%	4	6.50	26.00
	21%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	20%	4	6.50	26.00
	22%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	21%	4	6.50	26.00
	22%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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: konsentrasi

Tabel Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann whitney

KONSENTRASI		P
0%	18%	0.021
	19%	0.021
	20%	0.020
	21%	0.021
	22%	0.014
18%	19%	0.021
	20%	0.020
	21%	0.021
	22%	0.014
19%	20%	0.020
	21%	0.021
	22%	0.014
20%	21%	0.020
	22%	0.013
21%	22%	0.014

Lampiran 8

UJI KORELASI SPEARMAN

Correlations

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

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

UJI REGRESI LINIER

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	konsentrasi ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: koloni

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.680 ^a	.462	.437	39067.648

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	2.882E10	1	2.882E10	18.881	.000 ^a
	Residual	3.358E10	22	1.526E9		
	Total	6.240E10	23			

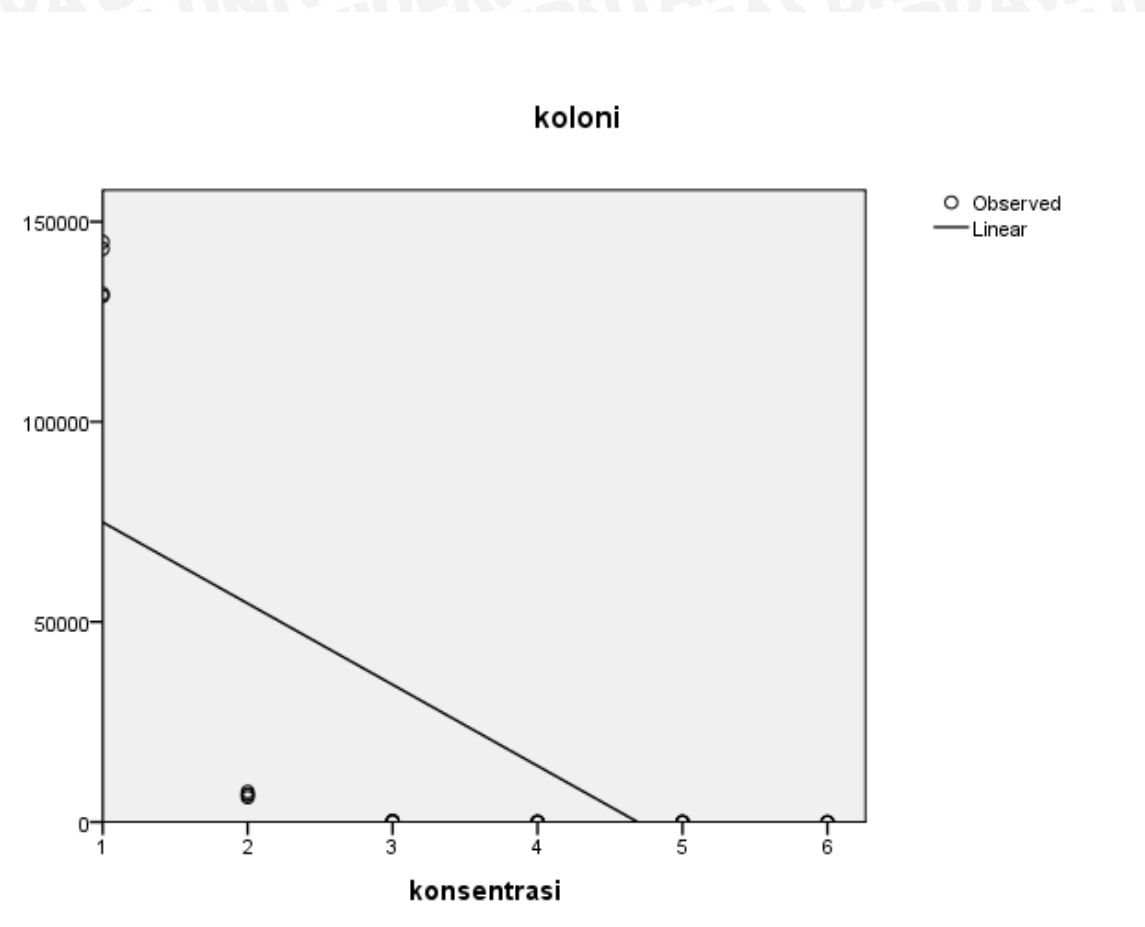
a. Predictors: (Constant), konsentrasi

b. Dependent Variable: koloni

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	95180.533	18185.000		5.234	.000
	konsentrasi	-20289.914	4669.477	-.680	-4.345	.000

a. Dependent Variable: koloni



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Luh Putu Ayu Pradnya Iswari

NIM : 0910710091

Program Studi : Pendidikan Dokter

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 aku sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



Malang, 7 Desember 2012

Yang membuat pernyataan,

Luh Putu Ayu Pradnya Iswari

NIM. 0910710091