

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Resistensi antibiotik adalah salah satu masalah kesehatan yang sering terjadi di masyarakat yang penting untuk ditangani. Resistensi antibiotik terjadi ketika tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri terhadap obat yang diberikan. Ini adalah tantangan kesehatan masyarakat global yang kompleks di mana tidak ada strategi sederhana yang berhasil mengatasi munculnya penyebaran organisme penyebab infeksi yang menjadi resisten terhadap antibiotik yang ada. (Lia Yunita et al., 2021)

Escherichia coli adalah bakteri penyebab paling umum dari infeksi. Diare yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dapat diobati dengan suatu antibiotik. (Sudigdoadi, 2015). Menurut Sasongko (2014), antibiotik kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki tingkat resistensi paling kecil dibandingkan dengan antibiotik yang diuji lainnya sehingga antibiotik ini penggunaannya masih efektif untuk pengobatan infeksi *Escherichia coli*. (Nurjanah et al., 2020)

Munculnya *Escherichia coli* yang resisten terhadap banyak obat, telah diamati di berbagai negara selama beberapa dekade terakhir. Meningkatnya resistensi terhadap sefalosporin, terutama peningkatan paralel dalam frekuensi *escherichia coli* yang resisten terhadap banyak obat, sehingga mengakibatkan meningkatnya kekhawatiran untuk pengobatan penyakit *escherichia coli*. (Wu et al., 2021) Oleh sebab itu, dibutuhkan suatu obat alternatif dari bahan alami seperti jahe dan kencur.

Jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) adalah salah satu jenis tanaman keluarga *Zingiberaceae* yang banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal di Indonesia. *Z. officinale* var *rubrum* mengandung senyawa aktif seperti terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Di dalamnya terdapat kandungan yaitu gingerol, shogaol, dan zingerone. Beberapa studi farmakologis menyatakan bahwa beberapa

spesies dari keluarga *Zingiberaceae* mempunyai aktivitas farmakologis sebagai antijamur, antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan. (Lukiati et al., 2020).

Selain jahe ada juga tanaman tradisional yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional yaitu tanaman kencur (*Kaempferia galanga l.*). Seyawa aktif yang terkandung didalamnya antara lain saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri. (Rahmi et al., 2016). Kencur memiliki aktivitas sebagai anti jamur dan antibakteri. (Soleh & Megantara, 2019)

Penggunaan kencur baik pada kalangan industri maupun rumah tangga bukan hanya digunakan menjadi obat namun bisa juga sebagai makanan, minuman yang kaya akan manfaat bagi kesehatan. (Soleh & Megantara, 2019). Di masyarakat kombinasi Jahe dan kencur sering dijadikan minuman hangat, atau yang lebih dikenal dengan wedang jahe kencur. (Saraswati et al., 2019)

Tetapi penelitian tentang kombinasi jahe dan kencur masih sangat jarang dilakukan oleh karena itu pada penelitian ini peneliti mengambil kombinasi dari ekstrak kombinasi jahe merah dan kencur untuk melihat dan membuktikan apakah kombinasi dari kedua tanaman ini memang berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau tidak.

Terapi kombinasi antibakteri biasanya digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh beberapa organisme baik anaerob ataupun aerob. Kombinasi antibakteri merupakan gabungan dari dua jenis antibakteri yang mempengaruhi satu sama lain pada aktivitas bakteri dan digunakan secara bersama. Jika dua agen antibakteri bekerja pada saat yang sama efek yang dapat terjadi adalah: 1. tidak berbeda yaitu kombinasi ini tidak unggul dalam aksi antimikroba bila digunakan tunggal; 2. bertambah yaitu kombinasi setara dengan masing-masing antibakteri bila digunakan tunggal; 3. Sinergi yaitu kombinasi jauh lebih tinggi daripada jumlah dari dua efek; 4. Antagonis yaitu kombinasi kurang daripada antibakteri tunggal yang lebih efektif ketika digunakan. (Aswarita, 2013)

Pengukuran pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur daya hambat Zona bening yang dihasilkan dari kontrol positif, kontrol negatif dan Ekstrak Kombinasi.

Menurut Davis Scott kriteria zona hambat dan diameter memiliki beberapa pembagaian yang pertama diameter (mm) >20 memiliki zona hambat sangat kuat, antara 10-19 kuat, 5-9 sedang dan <5 adalah lemah. (Alamsyah et al., 2018)

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada efek yang ditimbulkan dari ekstrak kombinasi jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizoma*) dan ekstrak kencur (*Kaempferia galanga*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizoma*) dan ekstrak kencur (*Kaempferia galanga*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizoma*) dan ekstrak kencur (*Kaempferia galanga*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro.
2. Untuk mengetahui apakah kombinasi ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizome*) dan kencur (*Kaempferia galanga*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro.

3. Untuk Mengetahui kandungan senyawa fitokimia dari ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum rhizome*) dan ekstrak kencur (*Kaempferia galanga*).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini menjadi bahan pembelajaran dan peningkatan wawasan peneliti mengenai ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum rhizoma*) dan ekstrak kencur (*Kaempferia galanga*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan bagi pembaca tentang manfaat dari ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum rhizoma*) dan ekstrak kencur (*Kaempferia galanga*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
3. Penelitian ini diharapkan menjadi bacaan dan masukan untuk mahasiswa dalam menjalankan penelitiannya

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri yang terdapat dalam saluran cerna manusia sebagai flora normal, namun berbahaya jika bertambah atau meningkatnya jumlah bakteri tersebut sehingga dapat mengganggu metabolisme tubuh, terutama dalam saluran pencernaan, salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* adalah diare. (Fajeriyati & Andika, 2017)

Escherichia coli adalah mikroorganisme umum dan beragam yang hidup menjadi organisme umum di saluran pencernaan manusia dan banyak hewan. Ikatan antara bakteri dan inangnya adalah simbiosis, memberikan sejumlah manfaat bagi keduanya. Namun, *Escherichia coli* berkembang menjadi patogen yang beradaptasi dengan inangnya melalui hilangnya dan keuntungan gen. Beberapa patogen *Escherichia coli* menyebabkan diare (patogen inaintestinal *Escherichia coli*), sedangkan yang lain menyebabkan infeksi saluran cerna (patogen ekstraintestinal *Escherichia coli*). (Nicolas-Chanoine et al., 2014)

2.1.1 Taksonomi *Escherichia coli*

Taksonomi dari bakteri *Escherichia coli* sebagai berikut.

Genus : *Escherichia*

Family : Enterobacteriaceae

Ordo : Enterobacteriale

Class : Gammaproteobacteria

Phylum: Proteobacteria

Spesies: *Escherichia coli* (Liu, 2019)



Gambar 2.1 *Escherichia coli*

2.1.2 Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli memiliki bentuk lurus seperti batang lurus (bacillus), Ukuran *Escherichia coli* adalah sekitar $1-3 \mu\text{m} \times 0,4-0,7 \mu\text{m}$ (mikrometer). Susunan sel dari *Escherichia coli* tersusun secara tunggal atau berpasangan. *Escherichia coli* adalah bakteri motil/bergerak. Beberapa strain *E. coli* adalah non-motil/tidak bergerak. *Escherichia coli* adalah bakteri flagellata dengan susunan flagela peritrichous dan merupakan bakteri non-sporing. Kapsul yang ada dalam beberapa strain. *Escherichia coli* yang dapat dengan mudah ditunjukkan menggunakan sediaan tinta India, muncul sebagai lingkaran cahaya yang jelas di latar belakang yang gelap. *Escherichia coli* merupakan salah satu jenis bakteri Gram Negatif. (Batra, 2018)

2.1.3 Patogenesis *Escherichia coli*

Penyakit usus yang disebabkan oleh *Escherichia coli* akibat dari konsumsi bakteri dan kemampuan bawaan *Escherichia coli* untuk mengatasi pertahanan inang. Bakteri gram negatif ditandai dengan selubung sel, yang terdiri dari membran sel sitoplasma bagian dalam, dinding sel peptidoglikan, dan membran luar. Membran luar terbuat dari lipid bilayer, protein pengikat, dan lipopolisakarida (LPS), yang menginduksi respon toksik. Strain patogen *Escherichia coli* masing-masing memiliki faktor virulensi berbeda yang dikodekan pada plasmid, transposon, dan bakteriofag. (Mueller & Tainter, 2021)

Penyakit *Escherichia coli* dapat menimbulkan suatu gejala penyakit bila mampu masuk ke tubuh inangnya dan mampu beradaptasi serta bertahan di dalam tubuh manusia, kemudian menyerang sistem imun dan akhirnya menimbulkan penyakit. Mekanisme patogenesis ini dilakukan melalui beberapa tahapan seperti bakteri patogen lainnya. Tahapan tersebut adalah kolonisasi pada titik tertentu di bagian sel permukaan usus (sel mukosa), pembelahan sel, perusakan sel usus, melintasi sel usus dan memasuki aliran darah, penambatan ke organ target dan akhirnya menyebabkan kerusakan organ. (Rahayu et al., 2018)

Berdasarkan patogenitasnya terbagi menjadi:

1. Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC)

Enterotoksigenik *Escherichia coli* merupakan penyebab diare tidak hanya pada manusia tetapi juga pada hewan. Setelah masuk ke dalam sistem pencernaan, ETEC akan menempel pada sel-sel yang melapisi mukosa usus kecil melalui interaksi yang dimediasi oleh faktor kolonisasi (colonization factor = CFs). Setelah itu, ETEC akan memproduksi enterotoksin. Faktor kolonisasi ini menggambarkan tiga tipe fimbriae berbeda dan sangat penting untuk proses penempelan pada permukaan mukosa usus kecil. (Rahayu et al., 2018)

2. Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC)

Enteropatogenik *Escherichia coli* menyebabkan diare yang cukup parah pada bayi dan dapat berlangsung selama lebih dari 2 minggu serta menyebabkan kematian jika terjadi dehidrasi parah. Pada orang dewasa, penyakit ini ditandai dengan diare berat, mual, muntah, kram perut, sakit kepala, demam, dan menggigil. Waktu untuk timbulnya penyakit adalah 17 sampai 72 jam; durasi penyakit adalah 6 jam sampai 3 hari. EPEC dapat menyebabkan penyakit yang akan berkembang pada manusia ketika ditransmisikan oleh air yang terkontaminasi feses. (Rahayu et al., 2018)

3. Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC) Enterohemoragik
Enterohemoragik *Escherichia coli* ditransmisikan melalui rute fecal-oral. Pangan yang berasal dari hewan, seperti daging, produk susu yang tidak dipasteurisasi, atau sayuran yang telah terkontaminasi merupakan pembawa transmisi utama dari penyebaran EHEC ke manusia. (Rahayu et al., 2018)

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

2.2.1 Klasifikasi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum rhizoma*)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: Zingiber officinale
Variasi	: Zingiber officinale var. rubrum (Supu et al., 2019)



Gambar 2.2 Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum rhizoma*)

2.2.2 Morfologi Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizoma*)

Jahe merah merupakan obat herbal yang telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat alternatif yang alami dan aman. Permintaan Tanaman jahe diperkirakan akan terus meningkat sebagaimana ditunjukkan oleh berlanjutnya data ekspor beberapa negara seperti Malaysia dan India dengan volume ekspor masing-masing sebesar 1.018,52 ton dan 503,50 ton.(Mandela et al., 2022)

Daun: 5-10 helai, tunggal, lancet, tepi rata, ujung runcing, pangkal tumpul, warna hijau tua, lebar 1–2 cm. Tangkai daun: panjang 40-50 cm, berwarna hijau dan merah didekat rimpang. Bunga: mahkota hijau kekuningan, panjang kelopak 1 cm, benang sari ungu gelap dengan kepala sari berukuran 9 mm. Rimpang: berbentuk silinder, warna permukaan kemerahan dan beruas, lunak dan berserat, berdaging kekuningan dan aroma menyengat.(Setiawan, 2018)

2.2.3 Manfaat Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizoma*)

Menilai aktivitas antibakteri jahe merah terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif menggunakan uji difusi disk agar-agar. Penelitian ini menunjukkan bahwa jahe merah memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dan perkembangan *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*. Minyak rimpang cukup aktif terhadap *Bacillus licheniformis*, *Bacillus spizizenii*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*.(S. Zhang et al., 2022)

Sebagai anti analgesik, Jahe merah sebanding dengan aspirin. Nyeri neuropatik (saraf) disebabkan oleh cedera, disfungsi atau kerusakan pada saraf. Kondisi ini mempengaruhi kualitas hidup seseorang karena sifat dan intensitasnya. Obat tradisional yang mengandung jahe merah dapat digunakan untuk mengobati neuralgia. (S. Zhang et al., 2022)

Pada pasien diabetes Jahe merah dapat menghambat enzim hidrolisis sakarida yang dapat digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia pada pasien diabetes tipe 2. Sebagai anti inflamasi Jahe merah dapat menghambat sintesis mediator inflamasi (prostaglandin, sitokin, kemokin, dan leukotrien) melalui penghambatan

ekspresi enzim siklooksigenase (COX)-1, COX-2, dan 5-lipoxygenase (5-LO). Selain itu juga Jahe merah dapat mencegah kanker pada tahap awal perkembangan. Angiogenesis adalah proses kunci dalam migrasi tumor dan jahe merah dilaporkan dapat menghambat angiogenesis sel endotel. (S. Zhang et al., 2022)

2.2.4 Kandungan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum rhizoma*)

Jahe merah dengan kandungan minyak atsiri 2,58-2,72%, paling banyak digunakan untuk industri farmasi, diikuti oleh Jahe Gajah dengan kandungan minyak atsiri 0,82-1,68%, dan Jahe Emprit dengan 1,5–3,3% minyak atsiri (Santoso, 2008). Bahan aktif dalam minyak atsiri yaitu: shogaol, gingerol, zingeron, dan antioksidan alami lainnya yang mempunyai efek mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit dari ringan sampai berat seperti pilek, batuk, sakit kepala, nyeri badan, rematik, mual, mabuk perjalanan, impoten, Alzheimer, kanker, dan penyakit jantung. (Redi, 2019)

2.2.5 Antimikroba Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum rhizoma*)

Ekstrak jahe merah telah digunakan sebagai suplemen untuk mengobati infeksi mulut. Mempelajari aktivitas antibakteri dari kombinasi jahe merah dan agen antibakteri umum (amoksisilin, vankomisin, dan ketokonazole) terhadap bakteri infeksi mulut. Interaksi sinergis antara jahe merah dan antimikroba konvensional diamati terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus mutans*; Oleh karena itu, kombinasi tersebut dapat membantu mengobati infeksi mulut. Studi lain menemukan bahwa kombinasi nisin dan minyak esensial jahe merah memiliki efek sinergis pada *Bacillus cereus*. (S. Zhang et al., 2022b).

Aktivitas antibakteri ekstrak jahe tergantung pada kandungan kimianya. Ekstrak rimpang jahe mengandung banyak komponen minyak atsiri, termasuk α -pinena, kamfena, kariofilena, β -pinena, α -farnesena, sineol, dl-kamfor, isokariofilena, kariofilenaoksida, dan germakron. Senyawa tersebut dapat menghasilkan agen antibakteri untuk menghambat pertumbuhan mikroba.

Rimpang jahe mengandung senyawa antimikroba dari golongan fenol, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri yang merupakan sejenis senyawa bioaktif sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba. (Widiastuti & Pramestuti, 2018)

Penghambatan pertumbuhan koloni bakteri juga disebabkan oleh rusaknya komponen struktural membran sel bakteri. Membran sel terdiri dari protein dan lipid yang sangat sensitif terhadap bahan kimia yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan pada membran sel menyebabkan gangguan transportasi nutrisi (senyawa dan ion), akibatnya sel bakteri kehilangan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan. (Handrianto, 2016)

2.3 Kencur (*Kaempferia galanga*)

2.3.1 Klasifikasi Kencur (*Kaempferia galanga*)

Kingdom : Plantae

Sub Kingdom : Phanerogamae

Division : Spermatophyta

Sub Division : Angiospermae

Class : Monocotyledonae

Order : Scitaminales

Family : Zingiberaceae

Genus : *Kaempferia*

Species : *Kaempferia galanga* (Soleh & Megantara, 2019)



2.3 Kencur (*Kaempferia galanga*)

2.3.2 Morfologi Kencur (*Kaempferia galanga*)

Tanaman kencur memiliki tinggi batang sekitar 20 cm dan tumbuh bergerombol. Kemudian kencur memiliki daun tunggal berwarna hijau dengan tepi berwarna merah kecoklatan. Bentuk dari daun kencur memanjang, ada yang lebar dan ada yang bulat, dilihat dari ukurannya, daun kencur memiliki panjang 7-15 cm, lebar 2-8 cm, ujung runcing pangkal melengkung dan tepi rata. Permukaan atas daun tidak berbulu, tetapi permukaan bawahnya berbulu halus. Kemudian tangkai daun agak pendek berukuran 3 sampai 10 cm yang terbenam didalam tanah, panjangnya 2-4 cm berwarna putih. Jumlah lembar pada daun kencur tidak lebih dari 2-3 lembar dengan susunan yang saling berhadapan. (Soleh & Megantara, 2019)

2.3.3 Manfaat Kencur (*Kaempferia galanga*)

Kencur banyak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional (jamu), industri kosmetik, penyedap makanan dan minuman, bumbu, serta bahan campuran saus tembakau pada industri, industri tembakau kretek, dan bahkan dapat digunakan sebagai bioinsektisida. Secara empiris, kencur telah digunakan sebagai penambah nafsu makan, ekspektoran, obat batuk, disentri, tonik, infeksi bakteri, masuk angin, sakit perut. (Setyawan et al., 2012)

Kencur mengandung manfaat sebagai anti jamur, minyak atsiri yang terkandung dalam kencur dapat menghambat pertumbuhan *Tricophyton rubrum*. Sebagai antibakteri Kencur memiliki kandungan salah satunya adalah Etil p-Metoksi sinamat (EPMS). Selain itu Semakin tinggi dosis ekstrak kencur yang dipakai maka presentase radang akan semakin kecil dan semakin tinggi persentase

inhibisi radang, maka semakin besar dosis ekstrak kencur yang digunakan semakin baik efeknya sebagai antiinflamasi. (Megantara et al., 2016)

2.3.4 Kandungan Kencur (*Kaempferia galanga*)

Kencur diketahui mengandung bahan kimia seperti saponin, flavonoid, dan polifenol. Bahan aktif yang terkandung dalam kencur yang berperan sebagai antijamur adalah flavonoid, tanin, sineol dan saponin. Berdasarkan dari hasil penelitian, zat aktif lain yang terkandung dalam kencur adalah minyak atsiri yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur melalui proses denaturasi protein yang melibatkan perubahan dalam stabilitas molekul protein sehingga menyebabkan perubahan struktur protein dan terjadinya koagulasi. (Annisah et al., 2018)

Berdasarkan hasil penelitian Hafidza (2014) menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) bisa menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* menggunakan konsentrasi hambat minimal sebesar 80%. (Rahmi et al., 2016)

2.3.5 Antimikroba Kencur (*Kaempferia galanga*)

Saponin memiliki molekul hidrofilik atau dapat menarik air dan molekul lipofilik atau larut dalam lemak. Molekul-molekul ini akan menyebabkan tegangan permukaan sel bakteri menurun, yang menyebabkan peningkatan permeabilitas dan kebocoran dinding sel. Kondisi ini menyebabkan sitoplasma keluar dari sel, sehingga mengakibatkan kematian sel. Agen antibakteri yang mengganggu membran sitoplasma memiliki efek bakterisida. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak rimpang kencur memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat, yang pada akhirnya merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom akibat interaksi antar flavonoid. dan DNA bakteri. (Magfirah et al., 2020)

2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu cara untuk memisahkan suatu campuran dari beberapa zat menjadi komponen-komponen yang terpisah. Ada dua syarat pelarut yang akan digunakan dalam proses ekstraksi, yaitu pelarut harus merupakan pelarut terbaik untuk bahan yang akan diekstraksi dan pelarut harus dapat terpisah dengan cepat setelah diaduk. Ketika memilih pelarut, yang harus diperhatikan adalah toksisitas, ketersediaan, biaya, sifat tidak mudah terbakar, rendahnya suhu kritis, dan tekanan kritis untuk meminimalkan biaya operasi dan reaktivitas. Pelarut yang sinkron untuk ekstraksi adalah heksana, karena kuantitas dan kualitas yang dihasilkan adalah yang terbaik.(Kurniawati, 2019)

Ada beberapa jenis ekstraksi:

2.4.1 Maserasi

Maserasi adalah metode sederhana yang paling umum digunakan. metode ini cocok, untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Ekstraksi dihentikan ketika mencapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, membutuhkan banyak pelarut, dan dapat menyebabkan hilangnya beberapa senyawa. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil.(Mukhriani, 2016)

Maserasi merupakan metode perendaman sampel untuk mengekstrak komponen yang diinginkan dalam kondisi dingin yang diskontinyu. Keuntungannya ialah lebih praktis, menggunakan pelarut lebih sedikit, dan tidak memerlukan pemanasan, tetapi waktu yang dibutuhkan relatif lama. Refluks dilakukan pada kondisi panas diskontinyu, sedangkan sokletasi dilakukan pada kondisi panas kontinyu. Keuntungan refluks dibandingkan sokletasi yakni

pelarut yang digunakan lebih sedikit dan bila dibandingkan dengan maserasi dibutuhkan waktu ekstraksi yang lebih singkat.(A. A. B. Putra et al., 2014)

2.4.2 Perkolasi

Perkolasi adalah proses dimana pelarut organik pada sampel ke pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Efisiensi proses ini hanya akan lebih tinggi untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan. Kelebihan dari metode ini ialah tidak perlunya pemisahan ekstraksi sampel, dan kekurangannya adalah selama proses ini, pelarut menjadi dingin sehingga tidak efektif melarutkan senyawa dari sampel.(Pradipta, 2011)

2.4.3 Sokletasi

Metode sokletasi merupakan metode panas yang dapat menghasilkan ekstrak yang lebih banyak, penggunaan pelarut lebih sedikit (efisiensi bahan), waktu kerja lebih cepat, dan sampel terekstraksi sempurna karena dilakukan berulang-ulang. Selanjutnya, bioaktivitas tidak hilang pada pemanasan sehingga teknik ini dapat digunakan dalam pencarian obat induk.(Anita & Proyogo, 2017)

Metode panas (sokletasi) adalah metode ekstraksi terbaik untuk mendapat jumlah ekstrak yang banyak dan juga pelarut yang digunakan lebih sedikit (efisiensi bahan) waktu yang digunakan lebih cepat, sampel terekstraksi secara sempurna karena dilakukan berulang-ulang.(Nurhasnawati et al., 2017)

2.4.4 Reflux

Dalam metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang terhubung ke kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu.(Mukhriani, 2016). Ekstraksi reflux lebih efisien daripada perkolasi atau maserasi dan membutuhkan waktu ekstraksi dan pelarut yang lebih sedikit. Reflux dengan etanol 70% memberikan hasil tertinggi dari bio-insektisida alami, didehydrostemofolin.(Q. W. Zhang et al., 2018)

2.4.5 Ultrasonic-assisted Extraction (UAE)

Ultrasonic-assisted Extraction (UAE) adalah teknik ekstraksi yang cepat dan efisien yang menggunakan gelombang ultrasonik untuk menghasilkan pergerakan pelarut yang cepat, menghasilkan laju perpindahan massa yang lebih tinggi dan proses ekstraksi yang lebih cepat. Dibandingkan dengan teknik ekstraksi canggih lainnya, UAE lebih ekonomis, ramah lingkungan, dan nyaman. UAE adalah metode yang sederhana dan cepat yang mengkonsumsi lebih sedikit energi, waktu dan bahan, sehingga menghasilkan produk yang lebih murni dengan hasil yang lebih tinggi. UAE dapat dilakukan di bawah suhu operasi rendah di mana ia dapat mencegah kerusakan termal pada ekstrak dan mempertahankan sifat struktural dan molekul senyawa bioaktif. Oleh karena itu, UAE dianggap sebagai pilihan ideal untuk industri minyak nabati. UAE juga tidak mencegah kerusakan panas pada senyawa bioaktif, tetapi juga mencegah kerusakan bahan tanaman. (Syahir et al., 2020)

2.5 Pengukuran Efektifitas Antibiotik

Kegunaan dan keunggulan uji efektivitas ini adalah untuk mengetahui suatu hasil untuk penghambatan pertumbuhan bakteri terhadap agen antibakteri. Metode uji efektivitas antibiotik ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizoma*) dan ekstrak kencur (*Kaempferia galanga*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

2.5.1 Metode Difusi

Uji sensitivitas bakteri terhadap suatu antibiotik dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode: difusi cakram (diffusion test), pengenceran atau dilusi (dilusi test), antimicrobial gradient dan short automated instrumen sistem. Uji sensitivitas dengan cara difusi merupakan cara yang paling umum digunakan karena teknik pengujiannya lebih mudah dilakukan. Uji sensitivitas dengan menggunakan metode difusi agar plate dapat dilakukan dengan cara Kirby Bauer dengan teknik disc diffusion (cakram disk) atau dapat juga menggunakan teknik sumuran. Teknik kerja dari metode Kirby Bauer cukup sederhana, teknik difusi

lebih mudah dilakukan daripada teknik sumuran, akan tetapi uji sensitivitas dengan teknik difusi memiliki harga cakram antibiotik yang relatif mahal, sehingga tidak selalu tersedia, sehingga teknik sumuran menjadi lebih efisien untuk digunakan. (Khusuma et al., 2019)

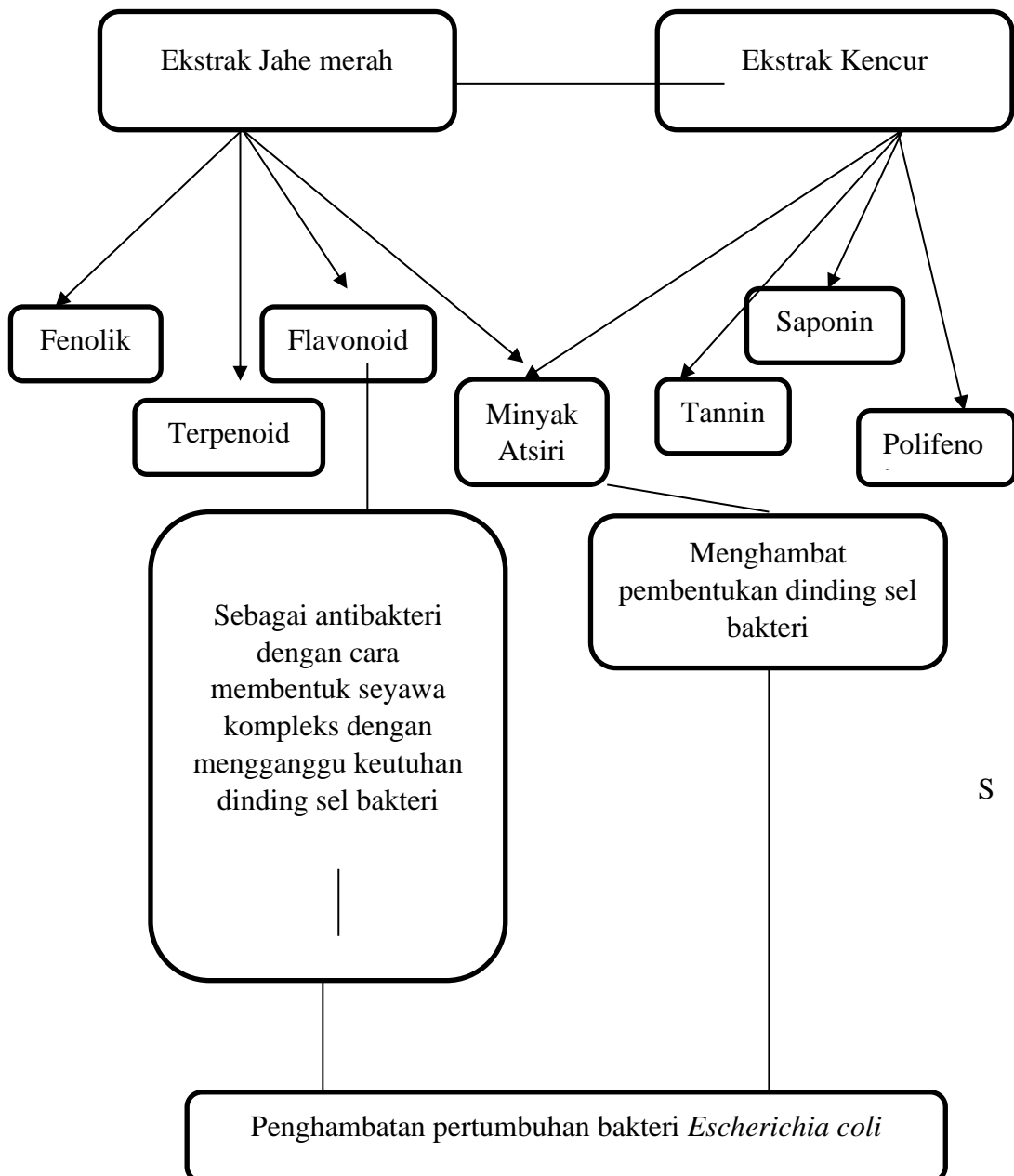
- A. Metode *disc diffusion (test Kirby & Bauer)* merupakan metode standar untuk mengukur patogen yang tumbuh cepat. Secara singkat, inokulum standar (suspensi langsung koloni untuk menghasilkan inokulum standar yang dapat diterima) disusap ke permukaan mh agar (diameter pelat 150 mm). Karena reproduktifitas tergantung pada tahap pertumbuhan logaritmik, subkultur segar digunakan. Disk kertas saring yang diresapi dengan konsentrasi standar agen antimikroba ditempatkan di permukaan, dan ukuran zona hambat di sekitar disk diukur setelah inkubasi semalaman. (Horváth et al., 2016) Uji aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi Kirby Bauer dengan risiko kegagalan yang lebih kecil dibandingkan metode lainnya karena setelah media tergores, media tersebut diletakkan secara terbalik untuk mencegah tetesan uap air terjatuh ke atas media yang telah ditanami bakteri, tetesan ini dapat mempengaruhi hasil akhir dari inkubasi. Selain itu, dengan cara ini lebih efisien dengan waktu yang digunakan ketika penelitian. (I. M. A. S. Putra, 2015)
- B. *Ditch-plate technique* metode ini merupakan salah satu jenis metode difusi agar, pertama kali dikembangkan oleh Alexander Fleming pada tahun 1929. Dia memotong sepotong agar-agar seperti parit dari cawan Petri dan menggantinya dengan media yang mengandung ekstrak yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri. Dia mengatur strain mikroba yang berbeda pada sudut kanan di parit. Dia mengamati 'jalur' penghambatan dan menyimpulkan bahwa jalur berturut-turut dari strain mikroba yang terjauh dari parit menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap strain itu. (Sayali et al., 2019)

- C. Metode *Dilusi* digunakan untuk menentukan konsentrasi penghambatan (MICs) agen antimikroba dan berfungsi sebagai metode referensi untuk pengujian kerentanan antimikroba. Metode MIC digunakan dalam pemantauan resistensi, pengujian komplementatif agen baru, untuk menentukan kerentanan organisme yang memberikan hasil samar-samar dalam tes disk, untuk menguji organisme di mana tes disk mungkin tidak dapat diandalkan dan ketika hasil kuantitatif diperlukan untuk manajemen klinis. (Committee et al., 2003)
- D. Metode *dilusi cair/broth dilution* adalah salah satu cara yang umum digunakan untuk AST, yang meliputi uji makrobroth dan mikrobroth untuk penentuan MICs. Prosedur yang dijelaskan untuk percobaan ini terdiri dari, melakukan pengenceran ganda dari agen antibiotik. Setiap pengenceran diinokulasi dengan suspensi standar yang disesuaikan dari bakteri yang diuji. Setelah pencampuran, pelat microtiter diinkubasi pada suhu yang sesuai, pertumbuhan bakteri dipantau secara visual atau dengan sistem otomatis untuk menentukan nilai MICs. MICs dikenal sebagai konsentrasi antibiotik konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri. Karena beberapa keuntungan dari uji microdilusi, ini dianggap sebagai metode referensi untuk menentukan MICs. Metode ini tidak mahal dan sejumlah kecil inokulum digunakan untuk mengevaluasi beberapa agen antibiotik dengan strain yang berbeda. Salah satu kelemahan untuk makrodilusi adalah memakan waktu yang lama, memakan banyak ruang dan reagen serta melibatkan kesalahan dalam pembuatan pengenceran antibiotik. (Marroki & Marroki, 2019)

Agar dilution and broth dilution adalah metode yang paling umum digunakan untuk penentuan konsentrasi penghambatan minimal (MIC) zat antibakteri, termasuk antibiotik dan zat lain dengan efek membunuh (aktivitas bakterisida) atau menghambat pertumbuhan (aktivitas bakteriostatik) bakteri. Teknik yang dijelaskan di sini ditujukan untuk menguji kerentanan terhadap agen antibiotik terhadap dengan biosida lain

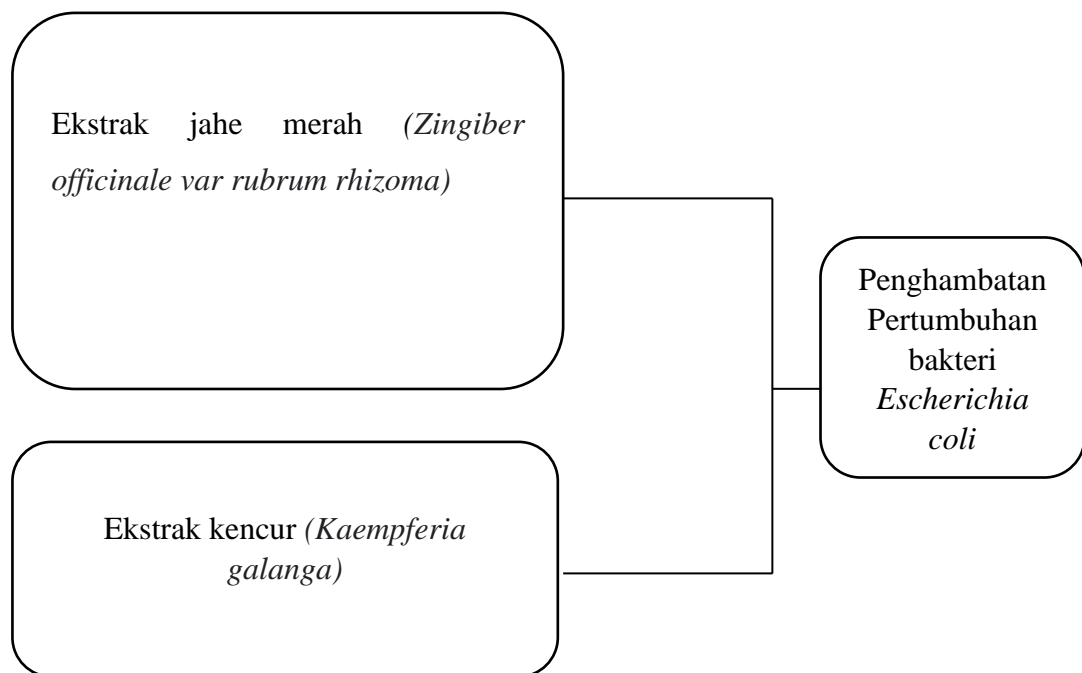
seperti pengawet dan desinfektan. Namun, tidak ada alasan utama mengapa mereka tidak dapat digunakan untuk anti bakteri lainnya. Untuk agar dilution, larutan dengan jumlah sel bakteri tertentu dilihat langsung di piring agar nutrisi yang telah dimasukkan konsentrasi antibiotik yang berbeda. Setelah inkubasi, adanya koloni bakteri di piring menunjukkan pertumbuhan organisme. Broth dilution menggunakan konsentrasi medium pertumbuhan cair yang mengandung konsentrasi yang meningkat secara geometris (biasanya seri pengenceran ganda) dari agen antimikroba, yang diinokulasi dengan sejumlah sel bakteri. Volume akhir pengujian menentukan apakah metode ini disebut pengenceran makro, bila menggunakan volume total 2 ml, atau pengenceran mikro, jika dilakukan dalam pelat microtiter menggunakan 500 µl per sumur. Setelah inkubasi, ditemukannya air keruh atau sedimen menunjukkan pertumbuhan organisme. Dalam pendekatan agar-agar dan pengenceran kaldu, MIC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah (dalam mg/l) dari agen antimikroba yang mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang terlihat dalam kondisi tertentu. (Wiegand et al., 2008)

2.6 Kerangka Teori



S

2.7 Kerangka Konsep Penelitian



2.8 Hipotesis

Adanya efek yang ditimbulkan dari ekstraksi jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizoma*) dan kencur (*Kaempferia galanga*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro