

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP
AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK RIMPANG
BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**

**HAERUDDIN
N11104403-1**



Tgl. Pengantar	19 - 12 - 008
Analisis	farmasi
Barang	1 lbr.
Merch	Indis
No. Katalog	376
Kelemb.	

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber
cassumunar Roxb.*)**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas- tugas dan memenuhi
syarat- syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**HAERUDDIN
N11104403-1**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber
cassumunar Roxb.*)**

**HAERUDDIN
N11104403-1**


Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



**Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si, Apt.
NIP.130 784251**

Pembimbing Pertama,



**Dra. Hj. Aisyah Fatmawaty
NIP. 131 257 417**

Pembimbing Kedua,



**Dra. Sartini, M.Si, Apt
NIP. 131 696 792**

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kepada Allah swt atas limpahan hikmat dan karuniaNya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana pada jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Tanpa bantuan dari berbagai pihak skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik, maka perkenankan penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si, Apt sebagai pembimbing utama, Ibu Dra. Hj. Aisyah Fatmawaty, Apt sebagai pembimbing pertama dan Ibu Dra. Sartini, M.Si, Apt sebagai pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktu dan pikirannya untuk memberikan bimbingan, saran dan dukungan yang sangat membantu selama proses pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
3. Ketua Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Ketua dan Sekretaris Program Reguler Sore Farmasi Fakultas Farmasi
5. Staf pegawai pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam penyelesaian studi penulis.

6. Kedua orang tuaku yaitu Bapak B. Nurdin dan Ibu Hj. Sitti Nurhayati yang telah memberikan dukungan dan dorongan dengan penuh kasih dalam meraih cita-cita, Saudaraku tercinta : Ilham, Suciati, Anwar, Jamal nasser, dan Hikmah jaya serta keluarga lainnya, terima kasih atas bantuan, dukungan, dorongan dan pengertiannya.
7. Teman-teman seperjuangan : Vivi mudarsi, Wenny, Nielma auliah, Latifa, La ode M. Rusman, A. Fitra amri, Charolin T., Yusri grace, Firda hasriani G., Dwi esti pratiwi, Putri Dwi Sulistyarini, Nurmaswati dan sahabat-sahabat lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
8. Kak Haslia dan Kak Dewi Primayanti Liala yang telah membantu kelancaran penelitian di Laboratorium Mikrobiologi dengan penuh kesabaran dari awal hingga akhir.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini disusun dengan segala keterbatasan sehingga masih belum sempurna sehingga kritik yang membangun sangat diharapkan demi perbaikan selanjutnya. Namun penulis berharap skripsi ini menambah bahan bacaan.

Skripsi ini penulis persembahkan kepada almamater Universitas Hasanuddin tempat penulis menuntut ilmu pengetahuan dan wawasan kemahasiswaan. Semoga dapat bermanfaat bagi dunia pendidikan terutama dalam bidang kefarmasian.

Akhimya mohon maaf yang sebesar-besarnya kepada semua pihak atas segala kesalahan dan kekeliruan yang pernah penulis lakukan selama

mengikuti pendidikan. Kiranya Allah swt Yang Maha Pengasih senantiasa melimpahkan berkat dan anugerahNya kepada semua pihak yang telah mendidik, mendorong serta membantu penulis.

Makassar, 2008

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri dari ekstrak rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode ekstraksi yang menghasilkan ekstrak dengan efek antibakteri yang paling baik. Ekstraksi yang digunakan meliputi metode maserasi, sokhletasi, dan refluks dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Pengujian daya hambat dilakukan dengan metode difusi pada medium Muller-Hinton Agar (MHA) dengan waktu inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C dengan kandungan sampel 1 mg/disc. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode penyarian dengan cara maserasi merupakan metode terbaik yang dapat memberikan diameter terbesar 9,89 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan pada *Streptococcus epidermis* 10,06 mm.

Kata Kunci : Metode ekstraksi, bangle, antibakteri

ABSTRACT

The research about influence of extraction method on antibacterial activity on Zingiber cassumunar extract to *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus epidermis* had been done. The aim was to find out extraction method that produce extract with the best antibacterial effect. The extraction method's which used are maseration, sokhletation, and reflux methods with used ethanol 70%. Inhibition activity measured by diffusion method on the Muller-Hinton Agar Medium (MHA) with incubation time 1 x 24 hours at 37°C contains 1 mg/disc of sample. The result of research showed that maseration is the best extraction method that able to gave largest inhibitory 9.98 mm on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus epidermis* is 10.06 mm.

Key word : extraction method, bangle, antibacterial

Daftar Isi	Halaman
LEMBAR JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman.....	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	4
II.1.2 Nama Daerah.....	4
II.1.3 Morfologi Tanaman.....	5
II.1.4 Uraian Rimpang.....	6
II.1.5 Kandungan Kimia.....	7
II.1.6 Kegunaan Tumbuhan.....	7
II.2 Ekstraksi Bahan Alam.....	7
II.2.1 Uraian Ekstraksi.....	7

II.2.2 Definisi Ekstrak.....	7
II.2.3 Jenis-Jenis Ekstraksi	8
II.3 Uraian Cairan Penyari	13
II.4 Uraian Antimikroba.....	13
II.4.1 Pengertian dan Pembagian Antimikroba	13
II.4.2 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	14
II.5 Uraian Bakteri Uji	16
II.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
II.5.2 <i>Streptococcus epidermis</i>	18
II.6 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba	19
II.7 Pengaruh Zat Antimikroba Terhadap Pertumbuhan Mikroba	22
II.8 Pengujian Secara Mikrobiologi.....	22
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	26
III.1 Alat dan Bahan.....	26
III.1.1 Alat-alat yang Digunakan	26
III.1.2 Bahan-bahan yang Digunakan.....	26
III.2 Penyiapan Medium.....	26
III.2.1 Sterilisasi Alat.....	26
III.2.2 Pembuatan Medium	27
III.3 Penyiapan Sampel Penelitian	28
III.3.1 Penyiapan Simplisia	28

III.3.2 Pembuatan Ekstrak Rimpang Bangle.....	29
III.3.2.1 Metode Mesarasi.....	29
III.3.2.2 Metode Soxhletasi.....	29
III.3.2.3 Metode Refluks	30
III.3.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol	30
III.4 Penyiapan Mikroba Uji	31
III.4.1 Peremajaan Kultur Murni.....	31
III.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	31
III.5 Pengujian Antibakteri	31
III.6 Pengamatan dan Pengolahan Data	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
IV.1 Hasil Penelitian	33
IV.2 Pembahasan.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
V.1 Kesimpulan	36
V.2. Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
SKEMA KERJA	39
LAMPIRAN.....	40

III.3.2 Pembuatan Ekstrak Rimpang Bangle.....	29
III.3.2.1 Metode Mesarasi.....	29
III.3.2.2 Metode Soxhletasi.....	29
III.3.2.3 Metode Refluks	30
III.3.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol	30
III.4 Penyiapan Mikroba Uji	31
III.4.1 Peremajaan Kultur Murni.....	31
III.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	31
III.5 Pengujian Antibakteri	31
III.6 Pengamatan dan Pengolahan Data	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
IV.1 Hasil Penelitian	33
IV.2 Pembahasan.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
V.1 Kesimpulan	36
V.2. Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
SKEMA KERJA.....	39
LAMPIRAN.....	40

III.3.2 Pembuatan Ekstrak Rimpang Bangle.....	29
III.3.2.1 Metode Mesarasi.....	29
III.3.2.2 Metode Soxhletasi.....	29
III.3.2.3 Metode Refluks	30
III.3.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol	30
III.4 Penyiapan Mikroba Uji	31
III.4.1 Peremajaan Kultur Murni.....	31
III.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	31
III.5 Pengujian Antibakteri	31
III.6 Pengamatan dan Pengolahan Data	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
IV.1 Hasil Penelitian	33
IV.2 Pembahasan.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
V.1 Kesimpulan	36
V.2. Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
SKEMA KERJA.....	39
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan (mm) Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) Terhadap Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Streptococcus epidermis</i>	40
2. Analisis Statistika Diameter Daerah Hambatan Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) dengan Beberapa Metode Ekstraksi Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Streptococcus epidermis</i> . Menggunakan Metode Rancangan Acak Kelompok.....	41
3. Analisa Varians Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) dengan Beberapa Metode Ekstraksi Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Streptococcus epidermis</i>	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Foto tanaman bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.).....	5
2. Grafik rata-rata ekstrak etanol 5% rimpang bangle dari beberapa metode ekstraksi terhadap pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Streptococcus epidermis</i>	45
3. Foto diameter daerah hambatan ekstrak etanol rimpangn bangle dari beberapa metode ekstraksi terhadap bakteri <i>Streptococcus epidermis</i> setelah di inkubasi 1 x 24 jam.....	46
4. Foto diameter daerah hambatan ekstrak etanol rimpangn bangle dari beberapa metode ekstraksi terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> setelah di inkubasi 1 x 24 jam.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Perhitungan Statistik Diameter Daerah Hambatan (mm) Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) Terhadap Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Streptococcus epidermis</i>	41

BAB I PENDAHULUAN

Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb. suku Zingiberaceae) dengan kandungan kimia berupa minyak atsiri (sineol, pinen dan sesquiterpen), damar, lemak, pati, tanin. Tanaman ini digunakan sebagai obat nyeri, penurun panas, peluruh dahak, pembersih darah, pencahar, obat cacing dan karminatif, Sementara untuk tujuan kosmetika (kecantikan) digunakan dalam campuran bedak jerawat. Minyak esensial dari bangle memperlihatkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, dermatopites dan ragi (1,2,3,4).

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat aktif terdapat dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula dengan ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Umumnya zat aktif yang terkandung dalam tanaman maupun hewan lebih larut dalam pelarut organik. Prinsip "like dissolve like" dapat digunakan disini yaitu sifat pelarut menentukan jenis senyawa kimia yang mungkin terekstraksi dari organisme. Selain mengetahui pemilihan jenis pelarut dalam metode ekstraksi perlu juga diketahui sifat

senyawa yang akan diekstraksi seperti kepolaran, efek variasi pH, dan termostabilitas (5,6).

Metode ekstraksi yang paling populer adalah menggunakan pelarut cair pada suhu kamar dan tekanan atmosfer, mungkin menggunakan panas. Pemilihan metode bergantung pada faktor-faktor seperti kepolaran, efek variasi pH, dan termostabilitas serta keuntungan dan kerugian prosedurnya. Metode meserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar terlindung cahaya. Beberapa cara ekstraksi penggunaan panas berkesinambungan mungkin diperlukan untuk meningkatkan kelarutan atau untuk mempengaruhi reaksi kimia, Misal soxhletasi atau refluks. Proses soxhletasi berguna untuk ekstraksi sempurna dari sampel tanaman dengan pelarut khusus, contoh untuk membebaskan lemak atau jika diinginkan komponen khusus 100%. Refluks merupakan metode ekstraksi yang digunakan untuk simplisia yang tahan terhadap pemanasan (6,7). Ketiga macam metode ekstraksi diatas memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing.

Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air, eter atau pelarut yang sesuai. Penyarian pada perusahaan obat tradisional masih terbatas pada penggunaan cairan penyari air, etanol atau etanol air (7). Senyawa yang bersifat antibakteri dalam

rimpang bangle adalah minyak atsiri dan taninnya, penggunaan etanol sebagai larutan penyari belum diketahui metode ekstraksi yang baik digunakan, maka perlu pemilihan metode ekstraksi yang cocok untuk mendapatkan/menyari komponen kimia tersebut.

Permasalahan yang timbul adalah bagaimana pengaruh beberapa metode ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri dari ekstrak rimpang bangle. Berdasarkan hal tersebut diatas maka telah dilakukan penelitian pengaruh beberapa metode ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri dari ekstrak rimpang bangle terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*.

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari tiga metode ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri dari ekstrak rimpang bangle dan untuk memperoleh metode ekstraksi yang dapat memberikan aktivitas antibakteri yang baik.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan metode ekstraksi yang dapat memberikan aktivitas antibakteri yang paling baik dari ekstrak rimpang bangle.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (8,9)

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Zingiber
Jenis	: <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.

II.1.2 Nama Daerah(8,10,11,12)

Indonesia	: Bangle
Sumatera	: Mogle (Aceh), bengle (Gayo), bungle (Batak), baglai/banlai (Mentawai), banglai (Palembang), kunyit bolai (Melayu).
Jawa	: Panglai (Sunda), bengle (Jawa) , pandhiyang (Madura).
Kalimantan	: Banglai (Dayak)
Sulawesi	: Bale (Makassar), Panini (Bugis)

mm, warnanya hijau. Bunganya bunga majemuk, bentuk tandan, keluar di ujung batang, panjang gagang sampai 20 cm. bagian yang mengandung bunga bentuknya bulat telur atau seperti gelendong, panjangnya 6-10 cm, lebar 4-5 cm. Daun kelopak tersusun seperti sisik tebal, kelopak bentuk tabung, ujung bergerigi tiga, panjang lebih kurang 2,5 cm warna merah menyala. Bibir bunga bentuknya bundar memanjang, warnanya putih atau pucat.

II.1.4 Uraian Rimpang (11)

Rimpang (Rhizoma) sesungguhnya adalah batang beserta sisik daunnya yang terdapat dalam tanah, bercabang-cabang tumbuh mendatar, dari ujungnya dapat tumbuh tunas yang muncul diatas tanah dan dapat merupakan suatu tumbuhan baru. Rimpang disamping merupakan alat perkembangbiakan juga merupakan tempat dilihat dari tanda-tanda berikut :

1. Beruas-ruas, berbuku-buku, akar tidak pernah bersifat demikian.
2. Berdaun, tepi daunnya telah menjelma menjadi sisik-sisik.
3. Mempunyai kuncup-kuncup.
4. Tumbuhnya tidak ke pusat bumi atau air bahkan kadang-kadang keatas, muncul diatas tanah.

Rimpang bangle berbau khas aromatik, rasanya agak pahit dan agak pedas. Secara makroskopik merupakan kepingan, pipih, ringan, bentuk hampir bundar sampai jorong atau bentuk tidak beraturan; tebal 2-5 mm; permukaan luar tidak rata berkerut, kadang-kadang dengan sampai coklat

kelabu; bidang irisan berwarna lebih muda dari pada permukaan luar, agak melengkung tidak beraturan. Korteks ; sempit, tebal lebih kurang 2 mm. Bekas patahan; kuning muda sampai kuning muda muda kecoklatan. Serbuknya berwarna kuning muda kecoklatan. Fragmen pengenal adalah butir pati banyak; idioblas berisi minyak atau dammar minyak. Pembuluh kayu penebalan jala dan tangga; serabut; parenkim.

II.1.5 Kandungan Kimia (8,10,11)

Kandungan kimia dari rimpang bangle diantaranya : Minyak atsiri (sineol, pinen, seskuiterpen), damar, lemak, gom, gula, pati dan tannin.

II.1.6 Kegunaan Tanaman (8,10,11)

Rimpang bangle umumnya banyak digunakan untuk mengobati antara lain : demam, sakit, kepala, batuk berdahak, perut nyeri, masuk angin, sembelit, sakit kuning, cacingan, reumatik, ramuan jamu pada wanita setelah melahirkan, mengecilkan perut setelah melahirkan dan kegemukan.

II.2 Ekstraksi Bahan Alam (5)

II.2.1 Uraian Ekstraksi (5)

Ekstraksi atau penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Faktor yang mempengaruhi kecepatan penyarian adalah kecepatan difusi zat yang terlarut melalui lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut. Secara umum metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi dan destilasi.

II.2.2 Definisi Ekstrak (12)

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa di perlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan.

II.2.3 Jenis-Jenis Ekstraksi (5,7,12)

Ekstraksi bahan alam yang sering digunakan adalah ekstraksi secara dingin seperti maserasi, perkolasi, dan soxhletasi serta ekstraksi secara panas seperti refluks, infudasi dan destilasi uap air.

a. Ekstraksi Secara Panas

1. Infudasi

Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan nabati, yang dilakukan dengan cara membasahi dengan air, biasanya dua kali bobot bahan, kemudian ditambah dengan air secukupnya dan dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit pada suhu 90°C sambil sekali-kali diaduk. Infuse diserukai setelah dingin dengan menggunakan kain flannel. Untuk mengurangi kekurangan air, ditambahkan air mendidih melalui ampasnya. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh

kuman dan kapang. Oleh sebab itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.

2. Refluks

Ekstraksi dengan metode refluks digunakan untuk simplisia dengan kandungan zat aktif yang tahan terhadap pemanasan. Alat refluks ini terbuat dari bahan gelas dimana bagian tengahnya dilengkapi dengan lingkaran gelas yang berbentuk spiral atau bola. Untuk mengekstraksi, bahan dimasukkan kedalam labu alas bulat bersama cairan penyari kemudian dipanaskan. Cairan penyari ini akan mendidih, menguap dan berkondensasi pada pendingin tegak, kemudian turun kembali pada labu dan sekaligus mengekstraksi kembali. Proses ini berlangsung secara sempurna. Pengerjaan ini dilakukan selama 3-4 jam.

3. Destilasi Uap Air

Ekstraksi secara destilasi uap air dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan normal. Pada pemanasan biasa kemungkinan akan terjadi kerusakan zat aktif. Untuk mencegah hal tersebut maka penyarian dilakukan dengan destilasi uap air.

b. Ekstraksi Secara Dingin

1. Soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah penyarian berkesinambungan secara dingin. Alat soxhletasi dibuat dari bahan gelas yang terbagi atas 3 bagian yaitu : bagian tengah untuk menampung serbuk simplisia yang akan diekstraksi yang dilengkapi dengan pipa pada bagian kiri dan kanan, satu untuk jalannya larutan yang berkondensasi uap menjadi cairan agar cairan penyari yang dipakai tidak terlalu banyak. Sedangkan bagian bawah terdapat labu alas bulat yang berisi cairan penyari dan ekstrak.

2. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan diluar sel, maka larutan yang terletak di dalam akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut berulang terus sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah

larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoik, stirok dan lain-lain.

Maserasi dapat dilakukan dengan modifikasi, misalnya :

a. Digesti

Digesti adalah cara maserasi yang menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 40 – 50 °C. Cara maserasi ini hanya digunakan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan.

Dengan pemanasan akan diperoleh keuntungan antara lain :

- Kekentalan pelarut berkurang, yang dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan-lapisan batas.
- Daya melarut cairan penyari akan meningkat, sehingga pemanasan tersebut mempunyai pengaruh yang sama dengan pengadukan.
- Koefisien difusi berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan kekentalan, sehingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi. Umumnya kelarutan zat aktif akan meningkat bila suhu dinaikkan.

Jika cairan penyari mudah menguap pada suhu yang digunakan, maka perlu dilengkapi dengan pendingin balik, sehingga cairan penyari yang menguap akan kembali ke dalam bejana.

b. Maserasi dengan menggunakan mesin pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus-menerus, waktu prosés maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.

c. Remaserasi

Cairan penyari dibagi dua. Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah dienap tuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.

d. Maserasi melingkar

Maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan penyari selalu bergerak dan menyebar. Dengan cara ini penyari selalu mengalir kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktif.

Keuntungan cara ini adalah aliran cairan penyari mengurangi lapisan batas, cairan penyari akan di distribusikan secara seragam, sehingga akan memperkecil pemekatan dan waktu yang diperlukan lebih pendek.

e. Maserasi melingkar bertingkat

Pada maserasi melingkar penyarian tidak dapat dilaksanakan secara sempurna, karena pemindahan massa akan berhenti bila keseimbangan telah terjadi. Masalah ini dapat diatasi dengan maserasi melingkar bertingkat.

Pada penyarian dengan maserasi melingkar bertingkat diperoleh serbuk simplisia akan mengalami penyarian beberapa kali, sesuai dengan jumlah bejana penampung. Serbuk simplisia sebelum dikeluarkan dari bejana penyari, dilakukan penyarian dengan cairan penyari baru. Dengan

ini diharapkan agar memberikan hasil penyarian yang maksimal. Hasil penyarian sebelum diuapkan digunakan untuk menyari serbuk simplisia yang baru, sehingga memberikan sari dengan kepekatan yang maksimal dan penyarian yang dilakukan berulang-ulang akan mendapatkan hasil yang lebih baik daripada yang dilakukan sekali dengan jumlah pelarut yang sama.

3. Perkolasi

Perkolasi merupakan sebuah metode ekstraksi yang sederhana. Bahan yang akan diekstraksi dikemas dalam kolom dengan kran pada ujung bawah dan penyaring di tengah atau sinter untuk mencegah keluarnya bahan padat. Kran dibuka, pelarut pengestraksi dituang dari atas dan dibiarkan menembus sampel. Bahan-bahan kimia yang terekstraksi dapat dikumpulkan dalam wadah yang sesuai. Penguapan pelarut menghasilkan ekstrak yang kering. Proses ini dapat diulang sebanyak mungkin bila perlu untuk menjamin sampel telah terekstraksi secara keseluruhan.

Keuntungan metode ini tidak memerlukan langkah tambahan, yaitu sampel sel awal telah terpisah dari ekstrak. Kerugiannya yaitu kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas, dan pelarut dapat menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien.

II.3 Uraian cairan penyari (7)

Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena selektif, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, tidak mudah ditumbuhi mikroba, dapat

bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloida, minyak menguap, glikosida, kurkumin antrakinin, flavanoid, steroid, damar dan klorofil.

II.4 Uraian Antimikroba

II.4.1 Pengertian dan Pembagian Antimikroba (13)

Antimikroba adalah obat pembasmi mikroba, khususnya yang merugikan manusia. Antimikroba yang ideal harus memiliki sifat toksisitas selektif yang tinggi, dimana obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Beberapa senyawa atau kelompok senyawa yang tergolong antimikroba adalah antibakteri, antifungi, antivirus dan lain-lain.

a. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa atau kelompok senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri

Antibakteri dapat digolongkan dalam :

1. Bakterisid adalah suatu senyawa atau kelompok senyawa yang pada dosis biasa dapat berkhasiat mematikan bakteri.
2. Bakteriostatik adalah suatu senyawa atau kelompok senyawa yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan atau perbanyakan bakteri pada dosis biasa. Pertumbuhan atau perbanyakan dari bakteri

tersebut akan kembali berlangsung jika efek zat atau senyawa tersebut sudah hilang.

b. Antifungi

Antifungi adalah suatu zat atau senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan atau perbanyakan dari fungi.

Antifungi dapat digolongkan dalam :

1. Fungisid adalah senyawa yang dapat mematikan fungi.
2. Fungistatik adalah suatu senyawa yang pada dosis biasa dapat menghambat pertumbuhan atau perbanyakan fungi. Pertumbuhan atau perbanyakan dari fungi tersebut akan kembali berlangsung jika efek zat atau senyawa tersebut sudah hilang

c. Antivirus

Antivirus adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan perbanyakan virus.

II.4.2 Mekanisme Kerja Antimikroba (14,15)

a. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amini benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing terhadap PABA dalam pembentukan asam folat yang non

fungsi, akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Contoh : Sulfonamida, trimetropin dan asam p-amino salisilat

b. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptida yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Antimikroba ini menghambat reaksi dalam proses sintesis dinding sel, sehingga terjadi kerusakan dinding sel yang menyebabkan terjadinya lisis. Contoh : Penisillin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin dan sikloserin.

c. Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba yang dapat mempengaruhi permeabilitas selektif dan merusak membran sel mikroba, sehingga kerusakan membran sel dapat menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain. Contoh : Polimiksin, golongan polien.

d. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri dari dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50 S. Untuk berfungsi pada sintesis protein komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S.

Penghambatan zat antimikroba padat terjadi dengan beberapa cara, antara lain :

1. Zat antimikroba berikatan dengan 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah baca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba.
Contoh : Steptomisin dan tetrasiklin.
2. zat antimikroba berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptida, tidak dapat menerima kompleks tRNA asam amino yang baru.
Contoh : Eritromisin dan kloramfenikol.

e. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Zat antimikroba bekerja dengan cara berikatan dengan enzim polimerase-tRNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Contoh : Rifampisin dan golongan kuinolon.

II.5 Uraian Bakteri Uji

II.5.1 *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi (16)

Dunia	: Procaryotae
Divisi	: Scotobacteria
Kelas	: Bacteria
Bangsa	: Eubacteria
Suku	: Micrococcales

Familia : Micrococcaceae
Marga : Staphylococcus
Jenis : *Staphylococcus aureus*

b. Sifat dan Morfologi (17,18,19,20)

Staphylococcus aureus termasuk familia micrococcaceae, kecuali beberapa strain, bakteri ini pada umumnya dapat membentuk pigmen yang berwarna kuning keemasan, memproduksi koagulase dan dapat memfermentasi glukosa dan manitol dengan memproduksi asam dalam keadaan anaerobic. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob, tetapi pertumbuhannya dalam keadaan anaerobic sangat lambat. Sel dari bakteri ini bersifat gram positif, berbentuk bulat (kokus) dengan ukuran kecil, diameter 0,5-1,5 mikron, tidak membentuk spora, katalase positif dan biasanya sel-selnya terdapat dalam kelompok seperti buah anggur dan ada juga yang terpisah-pisah atau tunggal.

Dapat hidup pada suhu 10-45°C, suhu optimum adalah 35-37°C, pH optimum adalah 7,0-7,5. Untuk membentuk pigmen memerlukan media khusus yaitu media tertentu dan bebas oksigen. *Staphylococcus aureus* sangat toksin oleh karena itu dapat menghasilkan bermacam-macam toksin dan enzim. Bakteri ini bisa menyebabkan penyakit perut yang mengganggu saluran pencernaan, sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lender manusia. Dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun pada hewan.

II.5.2 *Streptococcus epidermis*

a. Klasifikasi (16)

Dunia	: Procaryotae
Divisi	: Scotobacteria
Kelas	: Bacteria
Bangsa	: Eubacteria
Suku	: Micrococcales
Familia	: Micrococcaceae
Marga	: Streptococcus
Jenis	: <i>Streptococcus epidermis</i>

b. Sifat dan Morfologi (17,18,19)

Bentuk bulat seperti rantai, termasuk bakteri gran positif dan biasanya tidak berpigmen. Berdiameter 0,5-1,5 mm. Terdapat berbentuk tunggal berpasangan dan terdapat lebih dari satu bentuk hingga membentuk kelompok yang tidak beraturan. Ada kalanya dalam bentuk tetra. Koloni bulat cembung dengan permukaan licin atau sedikit kasar dan tepi seluruhnya atau sebagian tidak beraturan. Biasanya berwarna putih atau kuning bersifat fakultatif anaerob, tumbuh pada suhu 45°C dimana suhu optimimumnya 30-37°C. diisolasi dari bisul bemanah, luka jahitan pada kulit dan mukosa hewan yang bersifat parasit.

II.6 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba (19)

Perubahan yang terjadi pada lingkungan turut mempengaruhi perubahan organisme, baik secara morfologis maupun sifat-sifat fisiologisnya. Melalui pengetahuan mengenai berbagai faktor fisik yang mempengaruhi kelangsungan hidup dan pertumbuhan mikroba, maka kita dapat memacu, menekan atau bahkan mematikan aktivitas mikroba secara tepat.

1. Pengaruh Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang paling berperan mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup suatu organisme. Suhu mempengaruhi organisme dalam dua cara yang berbeda. Pada suhu tinggi, reaksi kimiawi dan enzimatik dalam sel berlangsung lebih cepat sehingga pertumbuhan meningkat lebih cepat pula. Akan tetapi, di atas suhu tertentu, protein, asam nukleat, dan komponen-komponen sel lainnya mengalami kerusakan permanen. Selanjutnya bila terjadi kenaikan suhu pada kisaran tertentu, pertumbuhan dan fungsi metabolik meningkat sampai titik tertinggi yang memungkinkan reaksi tidak berjalan sama sekali. Di atas suhu tersebut, fungsi sel jatuh drastis sampai titik nol.

Berdasarkan hal di atas, maka suhu yang berkaitan dengan pertumbuhan mikroorganisme digolongkan menjadi tiga, yaitu:

- a. Suhu minimum yaitu suhu yang apabila berada dibawahnya maka pertumbuhan terhenti.

- b. Suhu optimum yaitu suhu dimana pertumbuhan berlangsung paling cepat dan optimum. (disebut juga suhu inkubasi)
- c. Suhu maksimum yaitu suhu yang apabila berada di atasnya maka pertumbuhan tidak terhenti.

Berdasarkan ketahanan panas, mikroba dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

- a. Peka terhadap panas, semua sel rusak apabila dipanaskan pada suhu 60°C selama 10-20 menit.
- b. Tahan terhadap panas, apabila dibutuhkan suhu 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.
- c. Thermodurik, dimana dibutuhkan suhu lebih dari 60°C selama 10-20 menit tapi kurang dari 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.

2. Pengaruh pH

Masing-masing mikroba memiliki ketahanan yang berbeda-beda terhadap pengaruh pH. Fungsi umumnya tumbuh optimal pada pH rendah (suasana asam) sedangkan bakteri lebih menyukai suasana netral. Beberapa enzim, system transport electron dan system transport nutrient yang berada di membrane sel sangat sensitive (peka) terhadap konsentrasi ion hydrogen (H^+). Hal ini dapat mempengaruhi struktur tiga dimensi protein pada umumnya, termasuk enzim-enzim pertumbuhan.

- b. Suhu optimum yaitu suhu dimana pertumbuhan berlangsung paling cepat dan optimum. (disebut juga suhu inkubasi)
- c. Suhu maksimum yaitu suhu yang apabila berada di atasnya maka pertumbuhan tidak terhenti.

Berdasarkan ketahanan panas, mikroba dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

- a. Peka terhadap panas, semua sel rusak apabila dipanaskan pada suhu 60°C selama 10-20 menit.
- b. Tahan terhadap panas, apabila dibutuhkan suhu 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.
- c. Thermodurik, dimana dibutuhkan suhu lebih dari 60°C selama 10-20 menit tapi kurang dari 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.

2. Pengaruh pH

Masing-masing mikroba memiliki ketahanan yang berbeda-beda terhadap pengaruh pH. Fungsi umumnya tumbuh optimal pada pH rendah (suasana asam) sedangkan bakteri lebih menyukai suasana netral. Beberapa enzim, system transport electron dan system transport nutrient yang berada di membrane sel sangat sensitive (peka) terhadap konsentrasi ion hydrogen (H^+). Hal ini dapat mempengaruhi struktur tiga dimensi protein pada umumnya, termasuk enzim-enzim pertumbuhan.

- b. Suhu optimum yaitu suhu dimana pertumbuhan berlangsung paling cepat dan optimum. (disebut juga suhu inkubasi)
- c. Suhu maksimum yaitu suhu yang apabila berada di atasnya maka pertumbuhan tidak terhenti.

Berdasarkan ketahanan panas, mikroba dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

- a. Peka terhadap panas, semua sel rusak apabila dipanaskan pada suhu 60°C selama 10-20 menit.
- b. Tahan terhadap panas, apabila dibutuhkan suhu 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.
- c. Thermodurik, dimana dibutuhkan suhu lebih dari 60°C selama 10-20 menit tapi kurang dari 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.

2. Pengaruh pH

Masing-masing mikroba memiliki ketahanan yang berbeda-beda terhadap pengaruh pH. Fungsi umumnya tumbuh optimal pada pH rendah (suasana asam) sedangkan bakteri lebih menyukai suasana netral. Beberapa enzim, system transport electron dan system transport nutrient yang berada di membrane sel sangat sensitive (peka) terhadap konsentrasi ion hydrogen (H^+). Hal ini dapat mempengaruhi struktur tiga dimensi protein pada umumnya, termasuk enzim-enzim pertumbuhan.

3. Pengaruh Oksigen

Mikroba dapat dibedakan atas 3 kelompok berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, yaitu mikroba yang bersifat aerobik, anaerobik, dan anaerobik fakultatif. Kapang dan khamir pada umumnya bersifat aerobik sedangkan bakteri pada umumnya bersifat aerobik dan anaerobik.

4. Pengaruh Konsentrasi Larutan

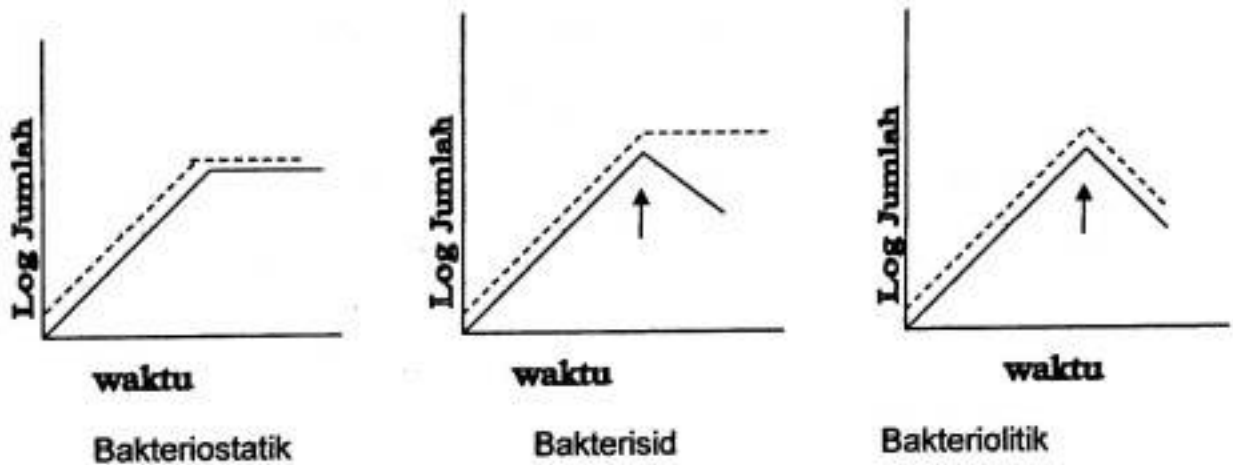
Umumnya mikroba hidup di lingkungan yang memungkinkan nutrient-nutrien mudah terlarut. Konsentrasi bahan-bahan terlarut sangat berpengaruh terhadap jalannya air dan nutrient memasuki sel yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan reproduksi sel. Sel-sel yang berada dalam lingkungan hipertonis memiliki kecenderungan kehilangan air karena konsentrasi larutan di luar sel lebih besar disbanding di dalam sel. Dalam kondisi seperti ini, umumnya bakteri tidak mampu bereproduksi karena tidak cukup air seluler untuk mendukung reproduksi tersebut. Akan tetapi pada lingkungan yang hipotonis dan isotonis mikroba mampu mencukupi kebutuhan air selulernya.

5. Pengaruh Konsentrasi Substrat (Nutrient) Terhadap Pertumbuhan

Konsentrasi substrat dalam suatu medium dapat mempengaruhi laju pertumbuhan populasi mikroba dan perolehan sel total (total cell yield) dari suatu kultur mikroba. Pada konsentrasi substrat yang amat minim, maka laju pertumbuhan mikroba secara proporsional akan menurun.

II.7 Pengaruh Zat Antimikroba Terhadap Pertumbuhan Mikroba (21)

Zat-zat antibiotik dan zat antimikroba lainnya mempengaruhi pertumbuhan dengan beberapa cara. Pengaruh dari zat-zat itu terhadap kurva pertumbuhan mikroba, dapat menjelaskan sifat gangguan yang ditimbulkan oleh zat itu terhadap sel mikroba (apakah bakteristatik, bakterisid, atau bakteriolitik).



Keterangan: ↑ = pemberian zat antimikroba

II.8 Pengujian Secara Mikrobiologi (14,18,22)

Pengujian aktivitas mikrobiologis seperti bakteri dan antimikroba lainnya dapat dilakukan secara kimia dan biologis. Pada pengujian secara biologis dikenal dua cara yaitu pengenceran dan difusi. Walaupun cara ini umumnya digunakan untuk pengujian aktivitas antibiotik, namun sebenarnya juga bisa digunakan untuk bahan-bahan lain atau senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas menghambat atau membunuh mikroba.

a. Cara Pengenceran

Pada cara ini digunakan sejumlah bahan antimikroba dengan tingkat konsentrasi yang berbeda sesuai dengan yang ditetapkan. Cara ini menggunakan sejumlah urutan tabung yang diisi media kaldu cair dan sejumlah bahan antimikroba dalam konsentrasi yang berbeda-beda, lalu ditanami dengan bakteri uji. Potensi antimikroba dapat diketahui dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat pertumbuhan bakteri uji. Kekeruhan akan berbeda-beda pula sesuai dengan jumlah bakteri serta dapat diukur dengan menggunakan alat turbidimeter. Kemudian dibandingkan dengan kekeruhan yang terjadi pada zat antimikroba pembanding yang mendapat perlakuan yang sama.

b. Cara Difusi

Cara difusi adalah proses perembesan larutan contoh pada media. Pada metode ini, kemampuan zat antimikroba ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba pada media tersebut. Beberapa modifikasi dari cara difusi adalah :

1. Cara difusi dengan plat silinder

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Pada cara

a. Cara Pengenceran

Pada cara ini digunakan sejumlah bahan antimikroba dengan tingkat konsentrasi yang berbeda sesuai dengan yang ditetapkan. Cara ini menggunakan sejumlah urutan tabung yang diisi media kaldu cair dan sejumlah bahan antimikroba dalam konsentrasi yang berbeda-beda, lalu ditanami dengan bakteri uji. Potensi antimikroba dapat diketahui dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat pertumbuhan bakteri uji. Kekeruhan akan berbeda-beda pula sesuai dengan jumlah bakteri serta dapat diukur dengan menggunakan alat turbidimeter. Kemudian dibandingkan dengan kekeruhan yang terjadi pada zat antimikroba pembanding yang mendapat perlakuan yang sama.

b. Cara Difusi

Cara difusi adalah proses perembesan larutan contoh pada media. Pada metode ini, kemampuan zat antimikroba ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba pada media tersebut. Beberapa modifikasi dari cara difusi adalah :

1. Cara difusi dengan plat silinder

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Pada cara

ini digunakan plat silinder yang diletakkan pada media. Larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

2. Cara difusi dengan cup plate

Cara ini sama dengan plat silinder. Perbedaannya adalah menggunakan alat berupa mangkok yang dibuat langsung dari media agamanya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat, dengan diameter 0,7 sampai 1 cm yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terjadi.

4. Cara difusi dengan metode kirby bauer

Prinsip dari kerjanya sama dengan cara difusi kertas saring. Perbedaannya cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai variasi konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi dengan metode agar lapis

Cara ini merupakan modifikasi dari cara kirby bauer. Perbedaan cara ini menggunakan dua lapisan agar, lapisan pertama tidak mengandung bakteri (*base layer*) sedangkan lapisan kedua mengandung bakteri yang tercampur ke dalam media agar (*seed layer*).

ini digunakan plat silinder yang diletakkan pada media. Larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

2. Cara difusi dengan cup plate

Cara ini sama dengan plat silinder. Perbedaannya adalah menggunakan alat berupa mangkok yang dibuat langsung dari media agarnya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat, dengan diameter 0,7 sampai 1 cm yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terjadi.

4. Cara difusi dengan metode kirby bauer

Prinsip dari kerjanya sama dengan cara difusi kertas saring. Perbedaannya cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai variasi konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi dengan metode agar lapis

Cara ini merupakan modifikasi dari cara kirby bauer. Perbedaan cara ini menggunakan dua lapisan agar, lapisan pertama tidak mengandung bakteri (*base layer*) sedangkan lapisan kedua mengandung bakteri yang tercampur ke dalam media agar (*seed layer*).

ini digunakan plat silinder yang diletakkan pada media. Larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

2. Cara difusi dengan cup plate

Cara ini sama dengan plat silinder. Perbedaannya adalah menggunakan alat berupa mangkok yang dibuat langsung dari media agarnya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat, dengan diameter 0,7 sampai 1 cm yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terjadi.

4. Cara difusi dengan metode kirby bauer

Prinsip dari kerjanya sama dengan cara difusi kertas saring. Perbedaannya cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai variasi konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi dengan metode agar lapis

Cara ini merupakan modifikasi dari cara kirby bauer. Perbedaan cara ini menggunakan dua lapisan agar, lapisan pertama tidak mengandung bakteri (*base layer*) sedangkan lapisan kedua mengandung bakteri yang tercampur ke dalam media agar (*seed layer*).

ini digunakan plat silinder yang diletakkan pada media. Larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

2. Cara difusi dengan cup plate

Cara ini sama dengan plat silinder. Perbedaannya adalah menggunakan alat berupa mangkok yang dibuat langsung dari media agarnya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat, dengan diameter 0,7 sampai 1 cm yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terjadi.

4. Cara difusi dengan metode kirby bauer

Prinsip dari kerjanya sama dengan cara difusi kertas saring. Perbedaannya cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai variasi konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi dengan metode agar lapis

Cara ini merupakan modifikasi dari cara kirby bauer. Perbedaan cara ini menggunakan dua lapisan agar, lapisan pertama tidak mengandung bakteri (*base layer*) sedangkan lapisan kedua mengandung bakteri yang tercampur ke dalam media agar (*seed layer*).

ini digunakan plat silinder yang diletakkan pada media. Larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

2. Cara difusi dengan cup plate

Cara ini sama dengan plat silinder. Perbedaannya adalah menggunakan alat berupa mangkok yang dibuat langsung dari media agarnya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat, dengan diameter 0,7 sampai 1 cm yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terjadi.

4. Cara difusi dengan metode kirby bauer

Prinsip dari kerjanya sama dengan cara difusi kertas saring. Perbedaannya cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai variasi konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi dengan metode agar lapis

Cara ini merupakan modifikasi dari cara kirby bauer. Perbedaan cara ini menggunakan dua lapisan agar, lapisan pertama tidak mengandung bakteri (*base layer*) sedangkan lapisan kedua mengandung bakteri yang tercampur ke dalam media agar (*seed layer*).

BAB III

POLA PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

III.1.1 Alat-Alat yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah alat ekstraksi soxhlet, alat ekstraksi reflux, botol pengencer, cawan petri, gelas erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur jangka sorong, Laminar Air Flow (LAF), lampu spiritus, ose, autoklaf, oven, *paper disc* (cakram kertas), rotavapor, spoit, tabung reaksi, timbangan analitik, timbangan kasar, toples kaca, water bath.

III.1.2 Bahan-Bahan yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah agar, aqua destillata, benzen, biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidemis*, dekstroza, ekstrak daging, etanol 70%, kapas, larutan fisiologis NaCl 0,9% Pepton, sampel rimpang bangle

III.2 Penyiapan Medium

III.2.1 Sterilisasi Alat (22,23)

Alat-alat yang digunakan dicuci dengan deterjen, dibilas dengan air sampai bersih. Alat-alat gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Ose dan pinset disterilkan dengan pemijaran di atas api spiritus, sedangkan alat-alat yang terbuat dari karet dan plastik yang tidak

tahan pemanasan disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.2.2 Pembuatan Medium (22)

1. Medium PDA (*Potato Dextrosa Agar*)

Potato Infusion	200 g
Dextrosa	20 g
Agar	15 g
Air suling	hingga 1000 ml

Bahan-bahan yang disiapkan untuk pembuatan medium PDA (*Potato Dextrosa Agar*) ditimbang sesuai dengan komposisinya, dilarutkan dengan air suling dan dipanaskan hingga semua bahan larut. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 15 menit.

2. Medium NA (Nutrient Agar)

Ekstrak daging	3 g
Pepton	5 g
Agar	15 g
Air suling	hingga 1000 ml

Bahan-bahan ditimbang sesuai kebutuhan dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Lalu dilarutkan dengan air suling hingga 1000 ml kemudian dipanaskan hingga larut. Lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Medium MHA (Mueller Hilton Agar)

Ekstrak daging	300 g
Hidolizat kasein	17,5 g
Pati	1,5 g
Agar	17,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Bahan-bahan ditimbang sesuai kebutuhan dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Kemudian dilarutkan dengan air suling hingga 1000 ml kemudian dipanaskan hingga larut. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.3 Penyiapan Sampel Penelitian

III.3.1 Penyiapan Simplisia

Sampel rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) diambil di Kecamatan Mandai, Kabupaten Maros. Rimpang bangle dibersihkan terlebih dahulu dari kotoran atau benda asing yang melekat pada permukaan rimpang, kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung, kemudian di potong-potong kecil kemudian dikeringkan. Setelah kering diserbukkan dengan derajat halus 4/8.

III.3.2 Pembuatan Ekstrak Rimpang Bangle

III.3.2.1 Metode Mesarasi

Rimpang bangle yang telah kering ditimbang 300 g dan dimasukkan kedalam toples mesarasi dan ditambahkan etanol 70% sampai semua bagian sampel terendam (1,5 l etanol 70%). Dibiarkan selama 3 hari dalam tempat yang terlindung cahaya sambil sesekali diaduk, kemudian filtratnya disaring dan ampasnya di remesarasi sebanyak 2 kali dengan perlakuan seperti yang pertama. Filtrat yang diperoleh dikisatkan dengan rotavapor, ekstrak yang diperoleh diangin-anginkan sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 15 gram.

III.3.2.2 Metode Soxhletasi

Rimpang bangle yang telah kering terlebih dahulu diserbukkan dan ditimbang 50 g, kemudian dimasukkan kedalam klonsong yang telah dilapisi kertas saring (tinggi sample dalam klonsong tidak boleh dari pipa sifon). Selanjutnya labu alas bulat diisi dengan cairan penyari (etanol 70%) kemudian ditempatkan diatas water bath dan diklem dengan kuat kemudian klonsong yang telah diisi sampel dipasang pada labu alas bulat yang dikuatkan dengan klem dan cairan penyari (etanol 70%) ditambahkan untuk membasahkan sampel yang ada dalam klonsong. Setelah itu kondensor dipasang tegak lurus dan klem pada statif dengan kuat. Aliran air dan pemanas dijalankan hingga terjadi proses ekstraksi zat aktif sampai sempurna (21 kali sirkulasi). Filtrat yang diperoleh dikisatkan dengan

rotavapor, ekstrak yang diperoleh kemudian diangin-anginkan sehingga diperoleh ekstrak kental 3,3 gram. Metode ini dilakukan sebanyak 6 kali (sampai bobot sampel yang diekstraksi 300 g).

III.3.2.3 Metode Refluks

Rimpang bangle yang telah kering terlebih dahulu ditimbang 50 g, kemudian dimasukkan kedalam labu alas bulat dan diisi dengan cairan penyari (etanol 70%) sampai serbuk simplisia terendam kurang lebih 2 cm diatas permukaan simplisia, atau 2/3 volume labu kemudian labu alas bulat dipasang kuat dan ditempatkan pada water bath, lalu dipasang kondensor pada labu alas bulat. Aliran air dan pemanas dijalankan sesuai suhu pelarut yang digunakan. Setelah 4 jam dilakukan penyaringan, filtrat ditampung dalam wadah penampung dan ampasnya ditambah lagi dengan etanol 70% dan dikerjakan seperti semula. Ekstraksi dilakukan selama 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dipekatan dengan rotavapor. ekstrak yang diperoleh kemudian diangin-anginkan sehingga diperoleh ekstrak kental 1,2 gram. Metode ini dilakukan sebanyak 6 kali (sampai bobot sampel yang diekstraksi 300 g).

III.3.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol

Ekstrak kental yang diperoleh dari beberapa metode ekstraksi dibuat pada konsentrasi 5 b/v. Untuk konsentrasi 5% b/v ditimbang 0,25 g ekstrak etanol kental kemudian diencerkan dengan DMSO sebanyak 5 ml.

III.4 Penyiapan Mikroba Uji (24,25)

III.4.1 Peremajaan Kultur Murni

Bakteri uji berupa *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* dari biakan murni, masing-masing diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium Nutrien Agar (NA) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

III.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.

Bakteri uji berumur 24 jam dari agar miring disuspensikan dengan larutan garam NaCl 0,9% dan kemudian diukur pada spektrofotometer.

III.5 Pengujian Antibakteri

Medium MHA (*Muller-Hinton Agar*) steril didinginkan hingga suhu 40-45°C kemudian dituang secara aseptis kedalam cawan petri sebanyak 15 ml dan dibiarkan memadat ini sebagai lapisan dasar. Setelah itu 10 ml medium MHA dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan kemudian dituangkan diatas medium MHA yang telah memadat tadi dan dibiarkan hingga setengah memadat.

Paper disc (cakram kertas) diletakkan secara aseptis pada permukaan media yang setengah memadat. Jarak tiap paper disc 3 cm dan jarak paper disc dengan tepi media adalah 2 cm. Paper disc diisi dengan ekstrak metanol rimpang bangle dengan konsentrasi 5% b/v serta DMSO aseptis (kontrol negatif) sebanyak 20 µl secara aseptis. Selanjutnya diinkubasikan selama 1x24 jam pada suhu 37°C lalu diukur daerah daya hambatnya.

III.6 Pengamatan dan Pengolahan Data

Pengamatan dilakukan setelah 1x 24 jam masa inkubasi, diameter hambatan diukur dengan menggunakan jangka sorong, kemudian hasil pengukuran dikumpul sebagai data, selanjutnya dilakukan pengolahan data.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh diameter daya hambat dari 3 macam metode ekstraksi sesuai dengan tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan (mm) Ekstrak Etanol 5% Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*.

Metode Ekstraksi Jenis Bakteri	Maserasi (mm)	Sokhletasi (mm)	Refluks (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.8	8.9	7.5
	9.1	7.8	7.1
	9.9	8.1	6.5
Rata-Rata	9.6	8.3	7.0
<i>Streptococcus epidermis</i>	9.9	8.6	7.4
	9.8	9.2	7.1
	10.5	9.1	6.5
Rata-Rata	10.1	8.9	7.0

IV.2 Pembahasan

Bangle dengan kandungan kimia minyak atsiri (sineol, pinen dan sesquiterpen), damar, lemak, pati, tanin. Kandungan kimia yang bersifat anti bakteri adalah minyak atsiri dan tanin. Minyak atsiri dan tanin mempunyai sifat fisik dan kimia, sifat tersebut dapat berubah akibat pengaruh dari

beberapa faktor, terutama karena kerusakan akibat oksidasi (panas, cahaya dan ion-ion logam) dan hidrolisa (air dan panas).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari rimpang bangle dengan konsentrasi 5% dengan menggunakan beberapa metode ekstraksi mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* ditandai dengan adanya zona bening didaerah cakram kertas/piper disc yang tidak ditumbuhi oleh *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter rata-rata daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* dari beberapa metode ekstraksi yang digunakan yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode maserasi menghasilkan diameter hambatan 9,6 mm, metode soxhletasi menghasilkan diameter hambatan 8,3 mm, dan metode refluks menghasilkan diameter hambatan 7,0 mm, sedangkan pada bakteri *Streptococcus epidermis* diameter hambatan dari metode maserasi 10,1 mm, metode soxhletasi dengan diameter hambatan 8,9 mm dan metode refluks dengan diameter hambatan 7,0 mm.

Hasil hambatan yang diperoleh diatas selanjutnya dilakukan analisis statistik menggunakan metode RAK (Rancangan Acak Kelompok), dari hasil yang diperoleh menunjukkan terdapat perbedaan yang berarti antara metode ekstraksi yang satu dengan metode ekstraksi yang lainnya terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan

Streptococcus epidermis. Metode refluks menghasilkan daya hambat yang kecil dibanding metode ekstraksi maserasi dan soxhletasi, hal ini disebabkan karena kemungkinan zat kimia bersifat antibakteri yaitu minyak atsiri rusak oleh pemanasan, sedangkan metode maserasi menghasilkan daya hambat yang paling baik diantara metode lainnya, hal ini dapat di lihat pada tabel anava menunjukkan anantara F hitung (25) lebih besar dari F tabel pada taraf 1% (5,10) dan taraf 5%(3,33), ini berarti bahwa metode ekstraksi yang di gunakan berpengaruh terhadap hambatan pertumbuhan bakteri uji.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dan analisis statistik yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Metode ekstraksi yang digunakan berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri dari ekstrak rimpang bangle.
2. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa ada perbedaan yang berarti antara 3 metode ekstraksi tersebut, metode maserasi memperlihatkan daya hambat yang paling luas, diikuti metode soxhletasi dan yang terakhir metode refluks.

V.2 Saran

Bila ekstrak ingin dibuat dalam bentuk sediaan, sebaiknya menggunakan ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan metode maserasi.

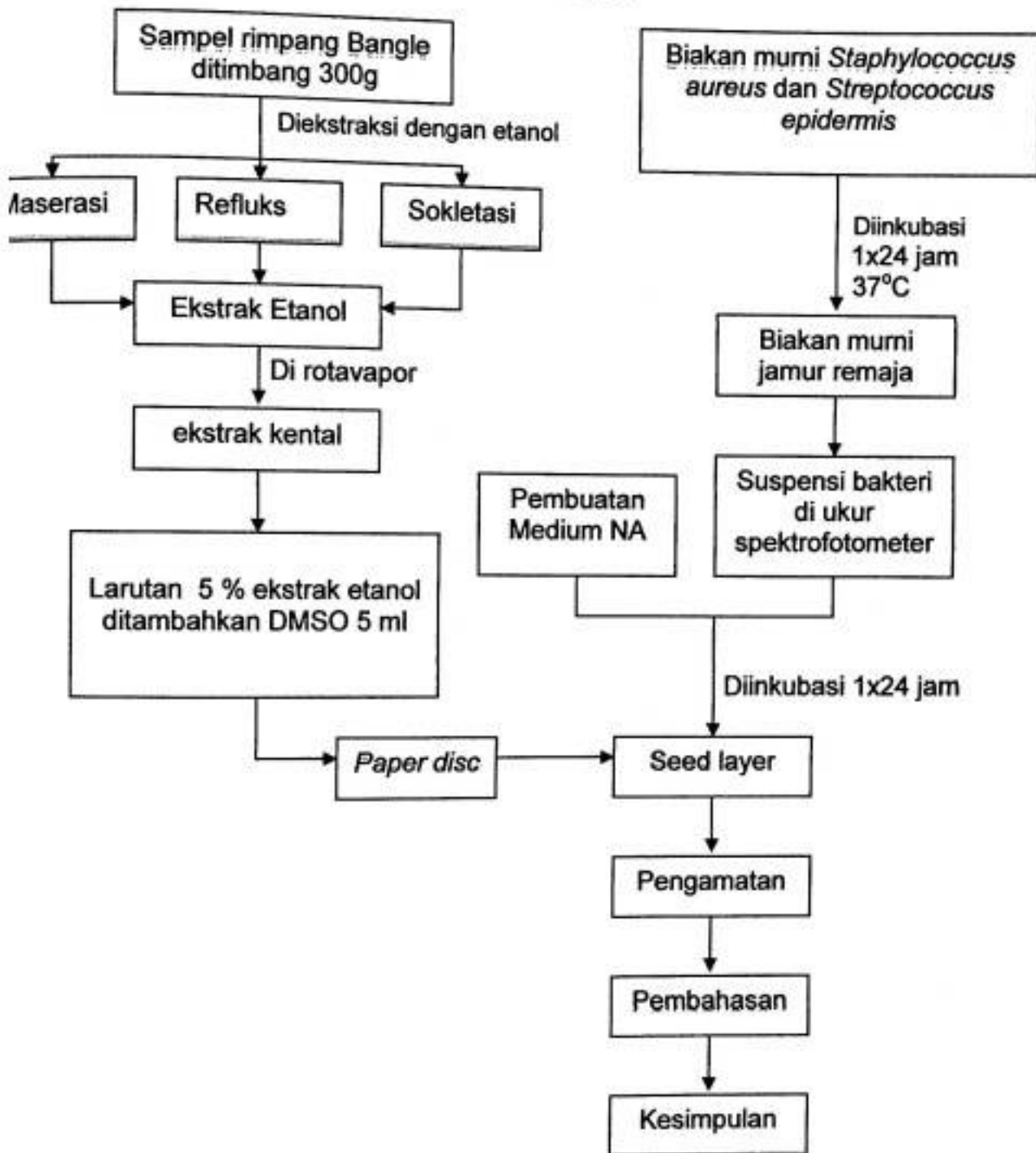
DAFTAR PUSTAKA

1. Heyne, K., (1987), "*Tumbuhan Berguna Indonesia*", Jilid I, Terjemahan Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan RI, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta.
2. Wijayakusuma, H.M., (1992), "*Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia*", Jilid IV, Jakarta.22-24
3. Pithayanukul, dkk., (2007), "*In Vitro Antimicrobial Activity of Zingiber cassumunar (Plai) Oil and a 5% Plai Oil Gel*", Faculty of Pharmacy, Mahidol University: Thailand.
4. Sukarsono, dkk., (2003), "*Tumbuhan Untuk Pengobatan*", Universitas Muhammadiyah, Malang.
5. Alam, G., Taebe, B., dan Makhmud, I., (2006), "*Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia I*", Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Jurusan Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.
6. Harborne, J., B., (1987), "*Metode Fitokomia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*", Terbitan Kedua, ITB, Bandung.
7. Anonim, (1986), "*Sediaan Galenik*", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
8. Gembong, T., (1996), "Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)", Cetakan Keempat. 441-443
9. Wijayakusuma, Hembing., 2002, "*Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia: Rempah, Rimpang, dan Umbi*", Milenia Populer, PT. Dyatama Milenia, Jakarta.
10. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, (1978), "*Materia Medika Indonesia*", Jilid III, Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 106,108
11. Hariyanto, (1983), "*Petunjuk Bertanam dan Kegunaan Bangle/Kompos*", Karya Anda, Surabaya. Indonesia. 12-13

12. Ditjen POM. (1994). *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.7
13. Anief, Moh., (2004), *Penggolongan Obat: Berdasarkan Khasiat dan Penggunaannya*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Hal 15-17, 19, 62
14. Brooks, Geo. F., Janet, S. Butel, Stephen, dan A. Morse., (2005), *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi II, Penerjemah Mudihardi, E., Rutamanan., Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., Alimsrdjono, L., Salemba Medika, Jakarta. Hal. 234-235,319
15. Wiria, M.S.S., dan Handoko T., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, Ganiswara, S.G., Editor. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Hal. 572-573
16. Buchanan, R.E dan Gibbons, N.E., 1974, *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*, Williams and Wilkins, Co. Baltimore. Hal. 9, 483
17. Djide, M.N., dan Sartini., 2006, *Analisis Mikrobiologi Farmasi. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi*, Fakultas Farmasi UNHAS, Makassar. Hal 256-263
18. Djide, M.N., dan Sartini, 2006, *Mikrobiologi Farmasi Dasar*, Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Hasanuddin, Hal. 242-245
19. Ali, A., 2005, *Mikrobiologi Dasar*, Jilid I, State University of Makassar Press, Makassar. Hal. 173-179
20. Pelczar, Jr. Michael J. Dan E.C.S. Chan., 2006, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid I, Mc Graw-Hill Book Company, UI-Press, Jakarta. Hal. 142
21. Jutono, dkk., 1975, *Mikrobiologi Untuk Perguruan Tinggi*, Jilid I, Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta. Hal. 241
22. Baker, F., 1987, *Handbook of Bacteriological Technique*, Second Edition, West Minsches Medical School, London. Hal. 67-75

23. Lay, W.B., 1994, *Analisa Mikrobiologi di Laboratorium*. PT. Bajagrafindo Bersama. Jakarta. Hal. 67-71
24. Difco., 1998, *Culture Mediabook*, E Merck Darmstaad. Federal Republic Germany. Hal. 214-215
25. Cappucino, J.G, and Shorman, N., 1978, *Microbiology Laboratory Manual*. Third Edition, Cummings Publishing Company Inc, New York. Hal. 57,67,91,123

SKEMA KERJA



Lampiran

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan (mm) Ekstrak Etanol 5% Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*.

Metode Ekstraksi Jenis Bakteri	Maserasi (mm)	Sokhletasi (mm)	Refluks (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.8	8.9	7.5
	9.1	7.8	7.1
	9.9	8.1	6.5
Rata-Rata	9.6	8.3	7.0
<i>Streptococcus epidermis</i>	9.9	8.6	7.4
	9.8	9.2	7.1
	10.5	9.1	6.5
Rata-Rata	10.1	8.9	7.0

Tabel 2. Analisis Statistika Diameter Daerah Hambatan Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan Beberapa Metode Ekstraksi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*. Menggunakan Metode Rancangan Acak Kelompok.

Metode Ekstraksi Jenis Bakteri	Maserasi	Sokhletasi	Refluks	Total	Rata-Rata
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.8	8.9	7.5		
	9.1	7.8	7.1		
	9.9	8.1	6.5		
Jumlah	28.8	24.8	21.1	74.7	
Rata-Rata	9.6	8.3	7.0		8.3
<i>Streptococcus epidermis</i>	9.9	8.6	7.4		
	9.8	9.2	7.1		
	10.5	9.1	6.5		
Jumlah	30.2	26.9	21.0	78.1	
Rata-Rata	10.1	8.9	7.0		8.6
Total	59	51.7	42.1	152.8	

Perhitungan :

$$FK = \frac{(152,8)^2}{3 \times 2 \times 3}$$

$$= 1297,1$$

$$JK_{Total}(JKT) = \{(9,8)^2 + (8,9)^2 + \dots + (6,5)^2\} - 1297,1$$

$$= (1324,56 - 1297,1)$$

$$= 27,5$$

$$JK_{Perlakuan}(JKP) = \frac{\{(28,8)^2 + (24,8)^2 + \dots + (21,0)^2\}}{3} - 1297,1$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\{3966,34\}}{3} - 1297,1 \\
 &= 1322,113 - 1297,1 \\
 &= 25,0
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Kelompok}}(JKK) &= \frac{\{(74,7)^2 + (78,1)^2\}}{9} - 1297,1 \\
 &= \frac{11.679,7}{9} - 1297,1 \\
 &= 1297,6 - 1297,1 \\
 &= 0,5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Galat}}(JK \text{ Error}) &= JKT - JKP - JKK \\
 &= 27,5 - 25,0 - 0,5 \\
 &= 2,0
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTP &= \frac{JKP}{a-1} \\
 &= \frac{25,0}{3-1} \\
 &= 12,5
 \end{aligned}$$

$$F_{\text{Hitung}} = \text{KTP/KTG}$$

$$= \frac{12,5}{0,14}$$

$$= 89,28$$

$$= 89,28$$

$$F_{\text{Tabel}} = 5\% (2,14) = 3,74$$

$$F_{\text{Tabel}} = 1\% (2,14) = 6,51$$

Tabel 3. Analisa Varians Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan Beberapa Metode Ekstraksi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*.

Sumber variasi	JK	d.b	KT	F Hitung	F Total	
					5%	1%
Perlakuan	25,0	2	12,5	89,28 ***	3,74	6,51
Kelompok	0,5	1	0,5	3,57*		
Error	2,0	14	0,14			
Total	27,5	17				

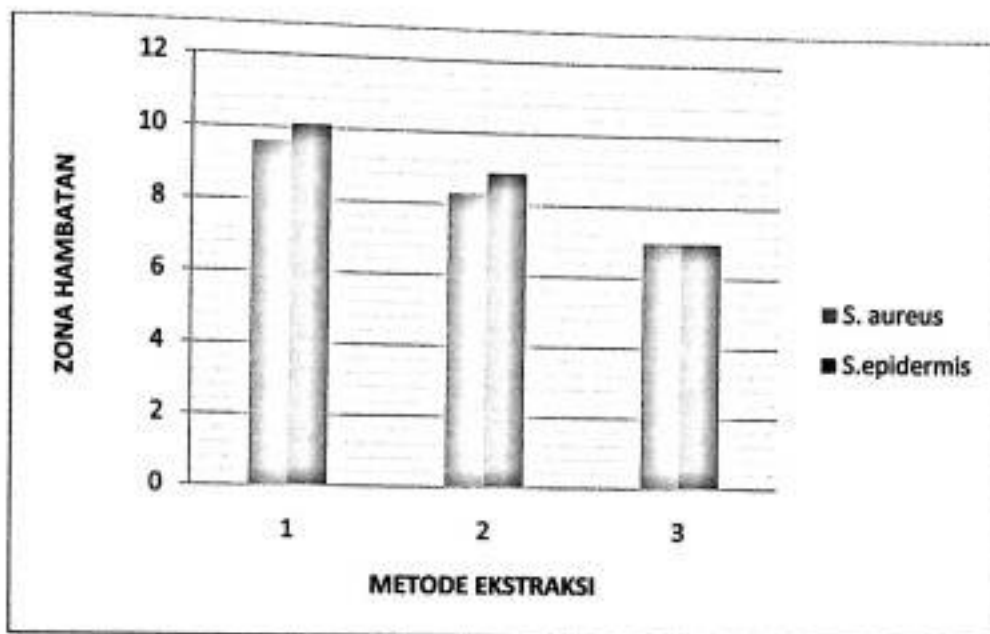
Keterangan :

- * = non signifikan
- ** = signifikan
- *** = sangat signifikan

$F_{Tabel} 5\% (2,14) = 3,74 < 89,28$ sangat signifikan

$F_{Tabel} 1\% (2,14) = 6,51 < 89,28$

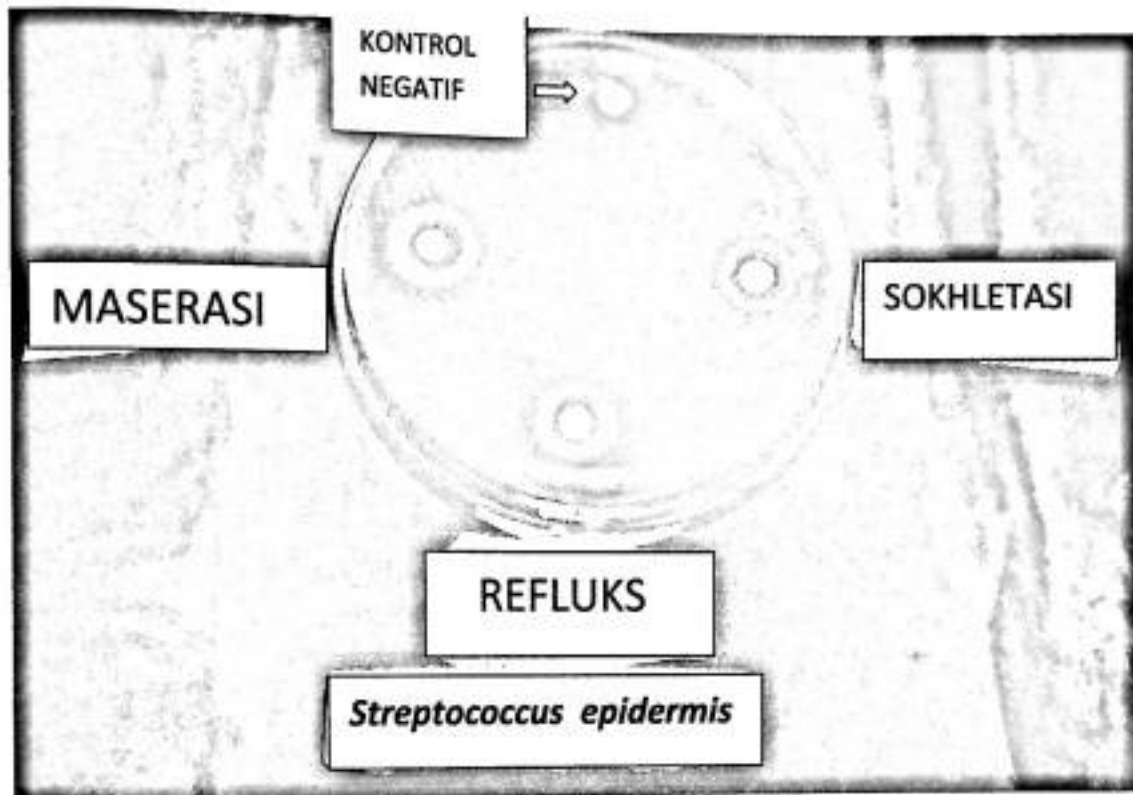
$F_{Hitung} > F_{Tabel}$ = sangat signifikan artinya ada perbedaan yang berarti antara metode ekstraksi yang satu dengan yang lainnya terhadap pertumbuhan bakteri uji.



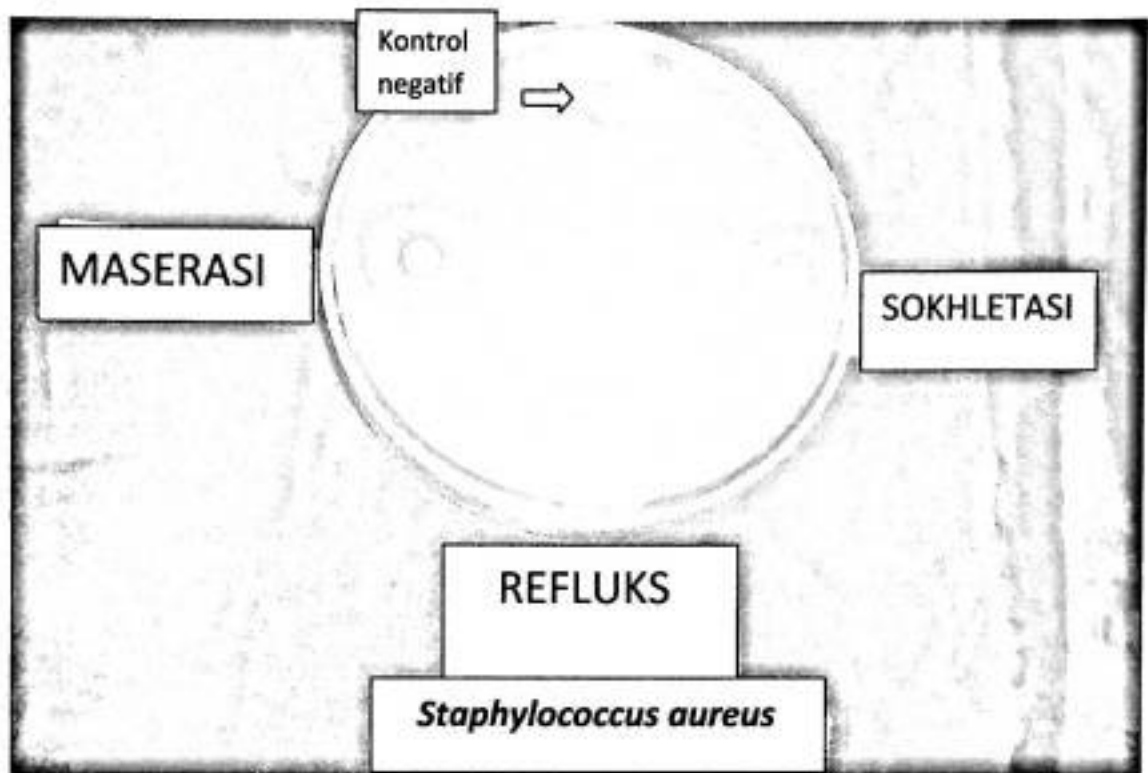
Gambar 2. Diagram zona hambatan dengan beberapa metode ekstraksi dari ekstrak etanol 5% rimpang bangle terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*.

Keterangan :

1. Zona hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* dengan metode maserasi.
2. Zona hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* dengan metode soxhlet.
3. Zona hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* dengan metode refluks.



Gambar 3. Foto diameter daerah hambatan ekstrak etanol rimpangn bangle dari beberapa metode ekstraksi terhadap bakteri *Streptococcus epidermis* setelah di inkubasi 1 x 24 jam.



Gambar 4. Foto diameter daerah hambatan ekstrak etanol rimpangn bangle dari beberapa metode ekstraksi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah di inkubasi 1 x 24 jam.