

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Escherichia coli adalah bakteri yang biasa ditemukan di usus manusia. Kebanyakan strain bakteri ini tidak berbahaya, namun beberapa strain dapat menyebabkan penyakit yang berat. Jenis bakteri *E. coli* yang bersifat patogen dapat ditularkan melalui air atau makanan yang terkontaminasi, atau melalui kontak dengan hewan ataupun manusia¹. Penyakit akibat infeksi *E. coli* di dalam usus yang tersering adalah diare. Penyakit lain yang dapat disebabkan oleh bakteri ini adalah infeksi saluran kemih, sepsis, meningitis pada bayi baru lahir dan infeksi luka terutama luka pada abdomen².

Diare adalah gangguan buang air besar/BAB ditandai dengan BAB lebih dari 3 kali sehari dengan konsistensi tinja cair, dapat disertai dengan darah dan atau lendir³. Menurut data WHO, penyakit diare adalah penyebab utama kematian kedua pada anak usia di bawah lima tahun, dan bertanggung jawab untuk membunuh sekitar 525.000 anak setiap tahunnya⁴. Diare akibat infeksi memiliki angka kejadian yang tinggi di seluruh negara – negara berkembang. Menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 insiden diare balita di Indonesia adalah 6,7%. Lima provinsi di Indonesia dengan insiden diare balita tertinggi adalah Aceh (10,2%), Papua (9,6%), DKI Jakarta (8,9%), Sulawesi Selatan (8,1%), dan Banten (8,0%)³.

Antibiotik yang sering digunakan pada pengobatan diare akibat infeksi bakteri *E.coli* adalah golongan fluoroquinolon⁵. Namun, data WHO tahun 2014 menunjukkan bahwa bakteri *E.coli* telah resisten terhadap sefalosporin generasi ke tiga dan fluoroquinolon⁶. Pemberian antibiotik pada pasien diare akibat bakteri *E.coli* harus dipertimbangkan dengan hati-hati, karena tindakan ini dapat menimbulkan efek samping yang merugikan seperti peningkatan resistensi terhadap antibiotik, infeksi jamur pada vagina dan kolitis terkait antibiotik⁵. Melihat hal tersebut maka penggunaan obat tradisional berbahan herbal yang

memiliki aktivitas antibakteri yang telah diteliti khasiat dan kegunaannya merupakan langkah yang tepat untuk mengurangi penggunaan antibiotik.

Penggunaan berbagai tumbuhan serta bahan alami lainnya sebagai alternatif obat terus berkembang semakain besar, baik untuk pengobatan suatu penyakit maupun dalam upaya memelihara kesehatan. Indonesia merupakan Negara yang memiliki kekayaan hayati yang cukup besar yang dapat dikembangkan terutama untuk obat tradisional. Salah satu tanaman yang populer digunakan sebagai obat tradisional adalah kunyit⁷. Kunyit (*Curcuma domestika* v.) termasuk salah satu tanaman rempah dan obat. Wilayah Asia khususnya Asia Tenggara merupakan habitat asli dari tanaman kunyit. Hampir setiap orang Indonesia dan India yakni bangsa Asia pada umumnya pernah menggunakan kunyit baik sebagai pelengkap bumbu masakan, bahan kecantikan, jamu, dan untuk menjaga kesehatan⁸.

Kurkumin merupakan bahan utama yang didapatkan dari rimpang kunyit. Sebuah penelitian laboratorium mengungkapkan bahwa kurkumin memiliki berbagai aktivitas biologis dalam pencegahan perkembangan tumor kolon dan ukuran tumor pada hewan. Saat ini penelitian tentang kunyit sebagai obat tradisional telah banyak dikembangkan. Dilaporkan bahwa kunyit memiliki efek terhadap pencegahan tumor usus dan kulit akibat zat karsinogenik yang diteliti pada tikus Swiss⁹. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa kunyit memiliki efek antiinflamasi yang efektif yang telah diteliti pada 18 pasien penderita rheumatoid arthritis¹⁰. Sebuah penelitian secara invitro yang telah dilakukan mengungkapkan bahwa kunyit merupakan zat antioksidan, antiinflamasi, antimutagenik, antimikroba dan antikanker⁸. Dalam penelitian lainnya juga diungkapkan bahwa minyak esensial dari rimpang kunyit yang didapatkan melalui proses ekstraksi hidrodistilasi memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* yang diketahui dengan mengukur zona hambat minyak esensial kunyit terhadap keempat bakteri tersebut¹¹.

Kurkumin mampu mengubah sifat membran sel bakteri menjadi lebih tipis dan meningkatkan permeabilitasnya sehingga terjadi kerusakan membran sitoplasmanya yang mengakibatkan makromolekul dan ion akan lolos dari sel bakteri sehingga lama – kelamaan bakteri akan menjadi rusak atau terjadi kematian¹². Kurkumin dinyatakan memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan, namun untuk mengetahui seberapa besar kandungan kurkumin dalam makanan agar menimbulkan efek dalam pengobatan masih dilakukan penelitian yang lebih lanjut¹³.

Pada penelitian sebelumnya telah ditemukan bahwa pada konsentrasi 15 ug/ml ekstrak kunyit tunggal memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *E.coli*¹⁴. Berlandaskan latar belakang tersebut, peneliti tertarik melakukan penelitian tentang ekstrak kunyit terhadap bakteri *E.coli* dalam beberapa konsentrasi yaitu 5 ug/ml, 10 ug/ml, 15 ug/ml, 20 ug/ml, dan 25 ug/ml secara *in vitro*.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak kunyit (*Curcuma domestica v.*) dalam beberapa konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*?

1.3. Hipotesis Penelitian

H0: Tidak terdapat perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak kunyit dalam beberapa konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

H1: Terdapat perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak kunyit dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Echerichia coli* secara *in vitro*.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Utuk mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak kunyit dalam beberapa konsentrasi terhadap bakteri *E.coli* secara *in vitro*.

1.4.2. Tujuan Khusus

- a. Pada konsentrasi berapa aktivitas antimikroba ekstrak kunyit menunjukkan zona hambat yang paling kecil.
- b. Pada konsentrasi berapa aktivitas antimikroba ekstrak kunyit menunjukkan zona hambat yang paling besar.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bidang Pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi ilmiah bagi peneliti lain dalam meneliti ekstrak kunyit sebagai antimikroba. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi referensi peneliti lain dalam meneliti tanaman herbal lain yang memiliki aktivitas antimikroba.

1.5.2. Peneliti

Penelitian ini dapat menjadi salah satu wadah bagi peneliti untuk mengaplikasikan dan mengembangkan ilmu yang telah didapat selama belajar di fakultas kedokteran.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Kunyit

Kunyit (*Curcuma domestica val*) merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan di India, Cina Selatan, Taiwan, Filipina, dan Indonesia khususnya pulau Jawa. Kunyit termasuk ke dalam tumbuh – tumbuhan *zingiberaceae*, yaitu tumbuhan sejenis umbi – umbian. Kunyit tumbuh pada ketinggian 1300 – 1600 m di atas permukaan laut. Namun sekarang, kunyit sudah dapat dibudidayakan pada ketinggian 240 – 2000 m di atas permukaan laut⁸.

Kunyit merupakan salah satu tanaman terna menahun yang memiliki ciri khas tumbuh secara berkelompok membentuk rumpun. Tanaman kunyit memiliki tinggi sekitar 40 – 100 cm. Kunyit memiliki batang semu yang tersusun dari pelepah atau kelopak daun yang saling menutupi. Batang kunyit mampu menyimpan air dengan baik sehingga menjadikannya bersifat basah, memiliki bentuk bulat, dengan warna hijau keunguan. Daun kunyit memiliki panjang 31 – 84 cm dengan lebar berukuran 10 – 18 cm. Daun kunyit tersusun berselang – seling mengikuti kelopaknya. Daun kunyit berbentuk bulat memanjang dengan tekstur permukaan sedikit kasar, dengan warna hijau muda dan biasanya berjumlah 6-10 daun. Bunga kunyit berbentuk kerucut runcing, memiliki warna putih atau kuning muda dengan pangkal yang berwarna putih. Bunga kunyit akan muncul dari ujung batang semu dan nantinya akan mekar bersamaan. Tangkai bunga memiliki panjang mencapai 16 – 40 cm. Rimpang atau disebut juga akar rimpang memiliki bentuk yang bulat dan panjang yang nantinya akan membentung cabang rimpang berupa batang di dalam tanah. Rimpang kunyit memiliki warna jingga kekuningan dengan bau khas yang rasanya agak pahit dan pedas. Rimpang kunyit yang sudah besar dan tua merupakan bagian yang dominan sebagai obat¹⁰. Klasifikasi tanaman kunyit adalah sebagai berikut¹⁵:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Spesies	: <i>Curcuma domestika v.</i> atau <i>Curcuma longa l.</i>

2.1.1. Manfaat Tanaman Kunyit

Tanaman merupakan salah satu bahan terpenting yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, karena lebih dari 60 % dari semua obat – obatan berasal dari tanaman. Kunyit telah banyak digunakan di Indonesia dan di negara Asia Tenggara lainnya baik sebagai bumbu masakan, pewarna, maupun sebagai bahan perawatan kecantikan¹⁶. Kunyit juga digunakan dalam produk makanan kemasan, seperti minuman kaleng, produk susu, es krim, yoghurt, jus jeruk, biskuit, popcorn, sereal, dan saus⁸. Kunyit digunakan sebagai obat herbal untuk penyakit rheumatoid arthritis, penyembuhan luka, dan infeksi saluran kemih. Kunyit juga digunakan untuk penyakit gangguan pencernaan, mengurangi flatulensi, sakit perut dan distensi, juga dalam kondisi dispepsia dan hilangnya nafsu makan. Pemanfaatan klinis kunyit umumnya adalah untuk organ pencernaan¹⁷. Dalam pemanfaatan kunyit sebagai obat, rimpang kunyit dapat digunakan sebagai antikoagulan, menurunkan tekanan darah, obat malaria, obat cacing, bakterisidal, mengobati keseleo, obat asma, stimulant, penghilang jerawat, penurun demam, dapat menghilangkan rasa gatal dan lain – lain⁸.

Tumbuhan kunyit mengandung sejumlah senyawa yang membuatnya berkhasiat untuk kesehatan. Senyawa tersebut meliputi monoterpenoid, sesquiterpenoid dan kurkuminoid yang mengandung: kurkumin (juga disebut diferuloylmethane), demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin dan tetrahydrocurcumin. Kurkuminoid merupakan pigmen kekuningan yang memiliki efek – anti inflamasi¹⁸. Kurkumin adalah fraksi yang paling penting dalam

aktivitas biologis kunyit seperti antijamur, antiinflamasi dan aktivitas antibakteri¹⁹. Kurkumin dianggap mampu mengaktifkan 20 molekul antibiotik yang terdapat dalam kunyit yang berpotensi sebagai terapi penyembuhan luka¹³.

Selain kurkuminoid, metabolit sekunder yang terdapat dalam kunyit adalah minyak atsiri. Minyak atsiri mengandung senyawa terpena (monoterpen, monoterpen teroksigenasi, dan sesquiterpen) yang penting dalam menentukan ekektivitas antibakteri, namun bagaimana terpena bereaksi terhadap mikroorganisme tidak sepenuhnya dipahami²⁰. Bubuk rimpang kunyit biasanya menghasilkan 1,5 – 5% minyak atsiri yang didominasi oleh sesquiterpen (tumeron, tumeon, dan tumeron) yang memberikan rasa dan bau aroma pada kunyit. Hampir semua tumbuhan angiospermae mengandung flavanoid sebagai metabolit sekunder, termasuk juga kunyit. Flavanoid dapat menghambat pembentukan protein yang akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan mikroba¹⁸.

2.2. Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri yang normal ditemukan pada usus manusia dan hewan berdarah panas lainnya. Kebanyakan strain *Escherichia coli* tidak menimbulkan bahaya, namun ada beberapa strain yang dikatakan bisa menyebabkan sakit yang parah²¹. *Escherichia coli* memiliki bentuk batang pendek, gram negatif dengan ukuran 0,4 – 0,7 um x 1,4 um. *Escherichia coli* bersifat motil dengan flagela, dapat tumbuh pada keadaan aerobik maupun anaerobik. Bakteri *Escherichia coli* tumbuh pada suhu 10 – 45°C, dengan suhu optimum 37°C, pH terbaik untuk pertumbuhannya adalah pada 7 – 7,5, minimalnya 4 dan maksimal 9. *Escherichia coli* tumbuh membentuk koloni bundar, cembung permukanya halus dengan tepi yang berbatas tegas. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada hampir semua media yang yang sering digunakan pada laboratorium mikrobiologi terutama pada agar MacConkey. Saat bakteri *Escherichia coli* ditumbuhkan pada medium yang mengandung glukosa maka dia akan memproduksi lebih banyak asam karena sifatnya yang memfermentasi laktosa, hal ini ditandai dengan warna koloni merah atau merah muda. *Escherichia coli* memberikan hasil yang positif terhadap uji indol, lisin

dekarboksilase, dan fermentasi manitol. Lebih dari 90 % isolat bakteri *Escherichia coli* memberikan hasil untuk glukuronidase- dengan menggunakan substrat 4-methylumbelliferyl- -glukuronide(MUG)². Bakteri *Escherichia coli* memiliki taksonomi sebagai berikut²²:

<i>Kingdom</i>	: Prokariot
<i>Divisi</i>	: <i>Gracilicutes</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Scotobacteria</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Eubacteriales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Escherichia</i>
<i>Spesies</i>	: <i>coli</i>
<i>Nama Binomial</i>	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli terdiri dari beragam kelompok bakteri. Strain *E. coli* yang patogen dikategorikan pada suatu patotipe. Enam patotipe berkaitan dengan kejadian diare dan secara umum disebut sebagai *E. coli* penyebab diare.

Berikut ini adalah keenam patotipe tersebut²³:

1. *Shiga toxin-producing E. coli (STEC)*
2. *Enterotoxigenic E. coli (ETEC)*
3. *Enteropathogenic E. coli (EPEC)*
4. *Enteraggregative E. coli (EAEC)*
5. *Enteroinvasive E. coli (EIEC)*
6. *Diffusely adherent E. coli (DAEC)*

2.2.1. Manifestasi klinis Infeksi Bakteri Escherichia coli

Sifatnya tergolong unik karena dapat menyebabkan infeksi di dalam dan di luar usus. Penyakit akibat infeksi di dalam usus yang tersering adalah diare. Penyakit lain yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* adalah infeksi saluran

kemih, sepsis, meningitis pada bayi baru lahir dan infeksi luka terutama luka pada abdomen².

Escherichia coli merupakan bakteri penyebab infeksi saluran kemih yang paling umum. *Escherichia coli* penyebab infeksi saluran kemih memiliki antigen O yang memproduksi secara spesifik faktor virulensi yang akan memfasilitasi kolonisasi sehingga terjadilah infeksi klinis. Infeksi saluran kemih ini juga yang nantinya dapat menimbulkan bakteremia sehingga menimbulkan sepsis. *Escherichia coli* juga merupakan salah satu penyebab utama meningitis pada janin. Sekitar 75% *E.coli* penyebab meningitis memiliki antigen K1⁵. *Escherichia coli* dihubungkan dengan penyakit usus (diare) pada manusia. Enteropathogenic *E.coli* merupakan penyebab diare terutama pada bayi dan anak – anak khususnya di negara berkembang. Enteropathogenic *E. coli* melekat pada sel mukosa usus halus, akibatnya terjadi diare cair yang biasanya sembuh spontan namun bisa juga menjadi kronis²².

Enterotoxigenic *E.coli* menjadi penyebab *secretory diarrhea* seperti pada kolera. Strain bakteri ini mengeluarkan toksin yang labil terhadap panas atau yang stabil terhadap panas. Bakteri terlebih dahulu melekat pada sel epitel mukosa usus halus lalu mengeluarkan toksinnya. Enteroinvasive *E.coli* menyebabkan penyakit yang mirip dengan shigelosis atau disentri yang disebabkan oleh *Shigella*. Penyakit ini paling banyak terjadi pada anak – anak di negara berkembang dan pada turis yang datang ke daerah tersebut. Bakteri ini menginvasi sel mukosa usus sehingga menimbulkan kerusakan sel dan terlepasnya lapisan mukosa yang nantinya menimbulkan gejala tinja mengandung darah, mukus dan pus. *Escherichia coli* penghasil toksin shiga menjadi penyebab kolitis hemoragik yang menimbulkan gejala tinja bercampur banyak darah. Bakteri ini dapat menyebabkan gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopati, dan trombositopenia akibat toksin yang dikeluarkan dapat merusak sel endotel pembuluh darah²².

2.3. Mekanisme Kerja Antimikroba

Antibakteri merupakan suatu senyawa atau agen yang dapat menghambat bahkan membunuh bakteri. Antimikroba digolongkan menjadi 2 golongan berdasarkan aktivitas antimikrobanya, yaitu bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik adalah golongan yang menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan golongan bakterisidal adalah golongan yang membunuh bakteri. Berikut ini pembagian bakteri berdasarkan mekanisme kerjanya²⁴:

a) Menghambat sintesis dinding sel

Antimikroba jenis ini melisis bakteri dengan cara merusak dinding sel atau menghambat pembentukannya. Contohnya penisilin dan sefalosporin.

b) Menghambat Fungsi membran sel

Penghambatan fungsi membran sitoplasma akan mengakibatkan makromolekul dan ion akan lolos dari sel sehingga sel menjadi rusak atau terjadi kematian. Contohnya polimiksin dan amfoterisin B.

c) Menghambat sintesis protein

Kerusakan atau penghambatan sintesis protein akan mengakibatkan bakteri tidak lagi mampu menjaga kelangsungan hidupnya akibat terjadinya gangguan pada protein sel. Contoh obat yang bekerja dengan cara ini adalah aminoglikosida dan makrolid.

d) Menghambat sintesis asam nukleat

Obat jenis ini menyebabkan terjadinya ikatan kuat pada pelengkap DNA sehingga menghambat replikasi DNA bakteri. Contohnya rifampisin dan trimetropim.

e) Menghambat metabolisme sel

Antibakteri ini menghambat pembentukan asam folat yang berguna untuk pembentukan DNA bakteri. Contoh penghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamid.

2.4. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba suatu zat dapat diukur menggunakan 2 cara yaitu metode difusi dan turbidimetri²⁵.

1. Metode Difusi Agar

a. Metode difusi agar dengan kertas cakram.

Metode ini merupakan yang paling sering digunakan, dimana kertas cakram yang berisi beberapa konsentrasi ekstrak akan ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diokulasikan bakteri uji. Lalu diinkubasi selama 24 jam, setelah diinkubasi diukur diameter zona hambatan ekstrak terhadap bakteri uji.

b. Metode gradien antimikroba

Metode ini menggabungkan prinsip dilusi dan difusi untuk menilai kadar hambat minimum zat antimikroba. Prinsip kerjanya dengan menciptakan gradien konsentrasi zat antimikroba yang diuji pada media agar. Cara kerjanya dengan menempatkan strip dari konsentrasi tertinggi sampai rendah di atas permukaan agar yang telah diinokulasi bakteri uji lalu zona hambatannya diukur.

c. Metode difusi sumuran

Prosedur kerja metode ini sama dengan difusi agar menggunakan kertas cakram, bakteri uji diinokulasi pada permukaan agar. Kemudian dibuat sumur dengan diameter 6-8 mm secara aseptik lalu 20-100 ml zat antimikroba dimasukkan kedalam sumur dan diinkubasi.

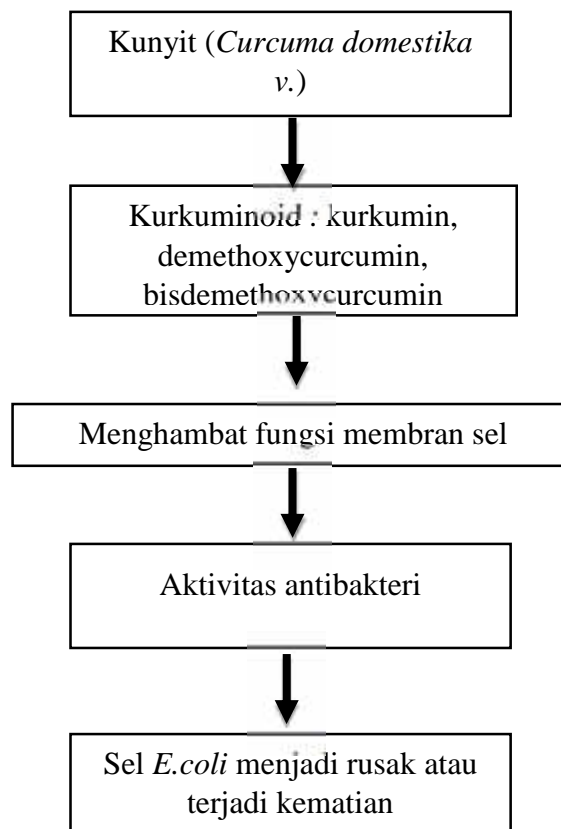
2. Metode dilusi

Metode ini menggunakan zat antimikroba dengan konsentrasi atau kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Selanjutnya bakteri uji yang telah diencerkan diinokulasi pada media lalu diinkubasi. Tujuannya adalah untuk mengetahui berapa kadar minimum zat antibakteri untuk menghambat atau membunuh bakteri uji. Metode dilusi dapat menggunakan media agar atau kaldu. Uji menggunakan dilusi agar terbatas pada keadaan – keadaan tertentu serta memerlukan waktu yang lebih banyak. Dilusi kaldu kemungkinan akan mendapatkan hasil yang kuantitatif yang berguna sebagai petunjuk zat tertentu yang berfungsi menghambat atau membunuh mikroorganisme uji. Namun penggunaan dilusi kaldu tidaklah praktis dan kegunaanya sedikit apabila dibuat dalam tabung pengujian.

2.5. Aktivitas Antimikroba Tanaman Kunyit

Kunyit (*Curcuma domestica* v.) mengandung sejumlah senyawa yang membuatnya berkhasiat untuk kesehatan, salah satunya adalah kurkuminoid yang mengandung senyawa kurkumin, demethoxycurcumin dan bisdemethoxycurcumin. Kurkumin adalah komponen kunyit yang paling aktif yang telah di eksplorasi berbagai sifat biologis dan obatnya. Kurkumin memiliki sifat molekul yang amphipatik dan lipophilic sehingga kurkumin dapat masuk pada membran plasma bakteri dan menyebabkan peningkatan pada permeabilitas membran sitoplasmanya. Kurkumin dapat mengubah sifat membran menjadi lebih tipis serta mengganggu fungsi membran sitoplasma tersebut. Hal ini mengakibatkan makromolekul dan ion akan lolos dari sel sehingga sel menjadi rusak atau terjadi kematian¹².

2.6. Kerangka Berpikir



Gambar 2.1. Bagan Kerangka Berpikir

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode ekperimental.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Determinasi tanaman kunyit (*Curcuma domestika v.*) dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Medan (UNIMED). Proses ekstraksi kunyit (*Curcuma domestika v.*) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Sumatera Utara menggunakan pelarut etanol 96%. Penelitian uji efektivitas ekstrak kunyit terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai bulan November tahun 2017.

3.3. Bahan yang Diuji

Bahan yang diuji pada penelitian ini adalah ekstrak kunyit (*Curcuma domestika v.*) yang didapatkan dari pasar tradisional yang berada di daerah Kampung Durian Medan Perjuangan yang kemudian dijadikan sebagai ekstrak dalam 5 konsentrasi yang berbeda yaitu 5 ug/ml, 10 ug/ml, 15 ug/ml, 20 ug/ml dan 25 ug/ml

3.4. Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli* yang dikultur pada medium *Mac Conkey*.

3.5. Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1. Alat Penelitian

Tabung reaksi, Mikro pipet, Vortex, Bunsen, Alkohol, Ose, Cawan petri, Penggaris / jangka sorong, Timbangan digital, Rak tabung, Autoclave, Swab kapas steril, Labu Erlenmeyer, Inkubator, Label, Alat tulis, Tisu, Pinset dan Kamera.

3.5.2. Bahan penelitian

Kunyit, Pelarut etanol 96%, Media *Muller- Hinton Agar*, Media *MacConkey*, Larutan pengencer NaCl, Biakan *Escherichia coli*, Cakram uji kosong, Cakram uji antibiotik ko-trimoksazol, Larutan Mc Farland dan *Cotton bud*.

3.6. Identifikasi Variabel Penelitian

3.6.1. Variabel Bebas

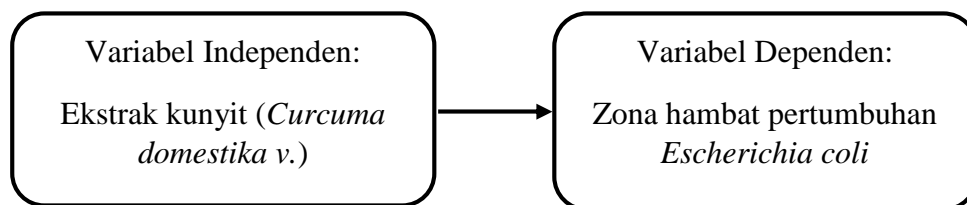
Aktivitas antimikroba ekstrak kunyit (*Curcuma domestika v.*) dalam 5 konsentrasi yang berbeda 5 ug/ml, 10 ug/ml, 15 ug/ml, 20 ug/ml dan 25 ug/ml

3.6.2. Variabel Terikat

Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

3.6.3. Variabel Kontrol

Antibiotik ko-trimoksazol 25 ug sebagai kontrol positif dan pelarut etanol 96 % digunakan sebagai kontrol negatif.



Gambar 3.1. Bagan Kerangka Konsep

Tabel 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Defenisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil	Skala

Ekstrak kunyit (<i>Curcuma domestica</i> v.)	Kentalan/pati/sari/sediaan yang diperoleh dari kunyit melalui proses maserasi dan distilasi vakum.	Timbangan digital. Mikro pipet	Menimbang ekstrak kunyit. Mengukur volume pelarut	Ekstrak kunyit dalam konsentrasi (5,10,15, 20,25) ug/ml	Interval
Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli	Zona jernih (clear zone) disekeliling kertas cakram yang menunjukkan adanya perhambatan pertumbuhan bakteri oleh variabel dependen dan variabel kontrol.	Penggaris	Mengukur zona jernih disekeliling kertas cakram.	Zona hambat (mm)	Rasio
Kotrimoksazole	Antibiotik kombinasi yang terdiri dari sulfamethoxazole dan trimethoprim.	-	-	-	Rasio
Etanol	Sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari.	-	-	-	Rasio

3.8. Langkah Kerja Penelitian

3.8.1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Mencuci seluruh alat yang akan dipergunakan dengan bersih, kemudian mengeringkannya. Selanjutnya disterilisasi dengan alat *autoclave* selama 15 menit.

3.8.2. Persiapan Sampel

Rimpang kunyit dideterminasi di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Medan (UNIMED) untuk memastikan kebenaran spesies tanaman yang akan digunakan.

3.8.3. Pembuatan Ekstrak Kunyit

Sebanyak 1 kg rimpang kunyit dihaluskan sebelum diekstraksi. Pembuatan ekstrak kunyit dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Sumatera Utara (USU) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Rimpang kunyit yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam botol ekstraksi. Ditambahkan pelarut etanol 96% sampai bahan terendam seluruhnya. Botol ekstraksi ditutup dengan plastik lalu diikat dengan karet, selanjutnya dimaserasi selama 3 hari. Setelah 3 hari, rendaman disaring. Filtrat hasil penyaringan didistilasi di rotarievaporator hingga pelarutnya habis menguap kemudian diukur massa ekstrak kunyit yang terbentuk.

3.8.4. Pembuatan Stock Kultur Bakteri *Escherichia coli*

Persediaan bakteri *Escherichia coli* diinokulasikan pada media *MacConkey*. *Escherichia coli* yang telah diinokulasikan diinkubasi selama 24 jam. Bakteri *E.coli* yang tumbuh pada media *MacConkey* akan menjadi bakteri persediaan untuk penelitian yang akan dilaksanakan.

3.8.5. Pembuatan Variabel Konsentrasi Ekstrak Kunyit

Persediaan ekstrak kunyit dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu konsentrasi 5 ug/ml, 10 ug/ml, 15 ug/ml, 20 ug/ml dan 25 ug/ml dengan pelarut etanol 96 %. Sebanyak 10 mg persediaan ekstrak kunyit diencerkan dengan 100 ml pelarut sehinggadihasilkan konsentrasi persediaan ekstrak kunyit 100 ug/ml . Persediaan ekstrak kunyit dalam setiap konsentrasi adalah 20 ml. Perhitungan pembuatan konsentrasi ekstrak dilakukan menggunakan rumus: $V_1.C_1 = V_2.C_2$

V_1 = Volume persediaan ekstrak kunyit yang diambil (ml)

V_2 = Volume ekstrak kunyit dalam konsentrasi yang diinginkan(ml)

$$(V_2 = X + V_1)$$

C_1 = Konsentrasi persediaan ekstrak kunyit (ug/ml)

C_2 = Konsentrasi ekstrak kunyit yang diinginkan (ug/ml)

X = Volume pelarut yang ditambahkan

Nilai yang telah ditetapkan adalah:

$$V_2 = 20 \text{ ml}$$

$$C_1 = 100 \text{ ug/ml}$$

Nilai yang dicari adalah:

- V_1 jika $C_2 = (5 \text{ ug/ml})$
- V_1 jika $C_2 = (10 \text{ ug/ml})$
- V_1 jika $C_2 = (15 \text{ ug/ml})$
- V_1 jika $C_2 = (20 \text{ ug/ml})$
- V_1 jika $C_2 = (25 \text{ ug/ml})$

	V_2 (ml)	C_2 (ug/ml)	C_1 (ug/ml)	$V_1 = V_2.C_2 : C_1$
	20	5	100	1
	20	10	100	2
Etanol 96 % digunakan sebagai	20	15	100	3
kontrol negatif dan	20	20	100	4
antibiotik ko- trimoksazol 25	20	25	100	5

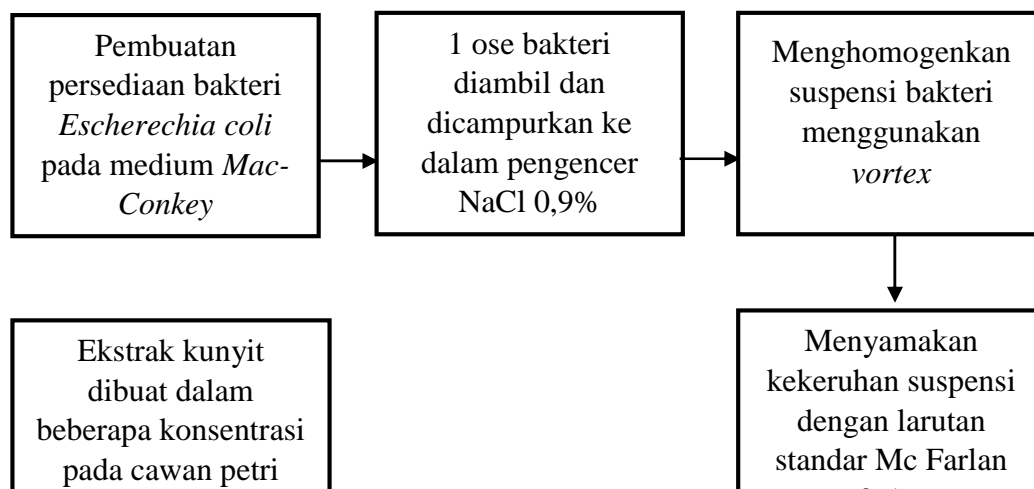
ugdigunakan sebagai kontrol positif. Sehingga seluruhnya berjumlah 6 variabel. Cakram uji kosong dimasukkan ke dalam masing – masing konsentrasi ekstrak kunyit selama 15 – 20 menit. Kemudian masing – masing cakram disk yang sudah direndam dimasukkan ke dalam medium *Muller Hinton Agar* (1 cawan petri berisi 4 cakram disk ekstrak kunyit, kontrol negatif, dan kontrol positif ko-trimoksazol) yang digunakan pada tahap pengujian selanjutnya.

3.8.6. Tahap Pengujian

Satu ose bakteri biakan diambil kemudian dicampurkan ke dalam NaCl 0,9 % lalu dihomogenkan. Suspensi bakteri tersebut kemudian diambil sebanyak 1ml lalu disebarkan secara

merata pada permukaan media *Muller Hinton Agar*. Larutan ekstrak diencerkan menggunakan pelarut etanol 96% agar mendapatkan konsentrasi seperti yang diinginkan. Kertas cakram yang telah direndam pada masing – masing larutan diletakkan di atas media agar yang telah ditanami bakteri *Escherichia coli* secara steril. Setelah penanaman bakteri dan menempatkan kertas cakram pada cawan petri selesai, maka cawan petri yang berisi kertas cakram tersebut diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya mengukur zona terang yang berada di sekitar cakram menggunakan penggaris atau jangka sorong. Kemudian membandingkan diameter zona hambatan setiap konsentrasi ekstrak dengan tabel penilaian diameter zona hambatan kontrol positif yang digunakan menurut CSLI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Dari tabel tersebut didapat ketetapan bahwa zona hambat kertas cakram obat ko-trimoksazol 25 ug adalah apabila < 10 mm dikatakan telah resisten, 10 – 15 mm dikatakan intermediate, dan bila zona hambatnya >15 dikatakan sensitif.

3.9. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Bagan Alur Penelitian

3.10. Analisa Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini merupakan suatu uji hipotesis komparatif variabel numerik berdistribusi normal lebih dari dua kelompok tidak berpasangan sehingga metode yang digunakan adalah *One Way ANOVA*. Namun, jika data yang dihasilkan tidak terdistribusi normal uji *One Way ANOVA* tidak dapat digunakan sehingga dilakukan uji nonparametrik seperti uji *Kruskall-Wallis*.

