



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* DARI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

SKRIPSI

Oleh :

Fajar Jamaluddin Sandhori

NIM 142210101085

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2018



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* DARI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Fajar Jamaluddin Sandhori

NIM 142210101085

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Juariyah dan Ayahanda Parto yang tercinta;
2. Adik Aris dan bima yang selalu menjadi penyemangat penulis;
3. Guru-guru sejak sekolah dasar sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

“Semua yang ada di langit dan bumi selalu meminta kepada-Nya. Setiap waktu Dia dalam kesibukan. Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?”

(QS. Ar-Rahman, 29-30)*



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2010. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung: CV Penerbit Diponegoro.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fajar Jamaluddin Sandhori
NIM : 142210101085

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada Ekstrak Etanol dan Fraksi Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demiki pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan pakasaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 juli 2018

Yang menyatakan,

Fajar Jamaluddin Sandhori

NIM 142210101085

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* DARI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Oleh

Fajar Jamaluddin Sandhori

NIM 142210101085

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada Ekstrak Etanol dan Fraksi Rimpang Jahe Merah (*zingiber officinale* var. *rubrum*)” karya Fajar Jamaluddin Sandhori telah diuji dan disahkan pada: hari, tanggal : 20 juli 2018

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Ketua,

Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt.
NIP. 198504282009121004

Anggota II,

Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm.,Apt.
NIP. 198204062006042001

Anggota I,

Ari Satia Nugraha, S.F.,GdipSc.,Msc-
Res.,Ph.D.,Apt.
NIP. 197807212003121001

Anggota III,

Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt.
NIP. 197604142002122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt.
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Rimpang Jahe Merah (*zingiber officinale* var. *rubrum*); Fajar Jamaluddin Sandhori, 142210101085; 2018: 80 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit infeksi baik di indonesia maupun di dunia telah menjadi salah satu masalah terbesar. Mikroorganisme patogen seperti bakteri, parasit, virus, ataupun jamur adalah penyebab dari infeksi. Infeksi merupakan penyebab utama kematian di dunia. Infeksi juga menjadi penyebab kematian didunia sebesar 22% pada abad ke-20 ini. Hingga saat ini terapi yang digunakan untuk pengobatan infeksi yaitu dengan pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan banyak kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik serta timbulnya efek samping seperti hipersensitivitas, penekanan sistem imun, dan reaksi alergi. Adanya resistensi antibiotik dan efek samping yang berlebihan tersebut menunjukkan bahwa perlu dikembangkannya antibakteri baru sebagai alternatif pengobatan antibakteri yang bersumber dari bahan alam. Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri adalah jahe. Di Indonesia terdapat tiga varietas jahe, yakni jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*), jahe gajah (*Zingiber officinale* *Roscoe*) dan jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). Dari penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan fenol dan flavonoid pada jahe merah lebih tinggi dari dua jenis jahe lainnya. Kandungan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada jahe merah adalah golongan fenol, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri.

Pada penelitian ini, dilakukan penetapan aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol dan fraksi rimpang jahe merah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Fraksinasi dilakukan untuk membandingkan efektivitas pelarut yang mampu mengambil senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair secara bertingkat menggunakan pelarut berturut-turut, yaitu pelarut heksana, kloroform, etil asetat, 1-butanol, dan metanol. Penetapan aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan difusi cakram dengan gentamisin cakram sebagai kontrol positif.

Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona bening dari ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi 1-butanol, dan Residu yaitu berturut-turut sebesar $8,2 \pm 0,19$ mm; $10,28 \pm 0,27$ mm; $10,4 \pm 0,28$ mm; $9,4 \pm 0,32$ mm; $7,7 \pm 0,17$ mm; dan $5,3 \pm 0,24$ mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan $11,7 \pm 0,33$ mm, $12,3 \pm 0,39$ mm, $11,6 \pm 0,36$ mm, $11,0 \pm 0,3$ mm, $7,7 \pm 0,26$ mm dan $6,6 \pm 0,37$ mm untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Fraksi n-heksana memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi yang lain sedangkan residu memiliki aktivitas antibakteri paling rendah dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi yang lain. Hasil pengujian kelompok sampel tidak memiliki perbedaan yang bermakna yang ditunjukkan dengan nilai ($p > 0,05$) pada uji *Kruskal wallis* dan *Mann whitney*.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada Ekstrak Etanol dan Fraksi Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)". Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT. atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan perhatian untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Bapak Ari Satia Nugraha, S.F.,GdipSc.,Msc-Res.,Ph.D.,Apt. dan Ibu Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt. selaku Dosen Pengaji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Ibu Fifteen Aprila Fajrin, S. Farm., M. Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Proyek Penelitian yang telah memberikan kesempatan penulis tergabung dalam grup penelitian dan banyak memberikan ilmu serta bimbingan;
7. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan banyak ilmu, berbagi pengalaman, dan selalu memotivasi penulis selama perkuliahan;

8. Orang tua tercinta Ibu Juariah dan Bapak Parto yang senantiasa memberi doa, kasih sayang, semangat, dan motivasi untuk mengiringi perjalanan hidup penulis;
9. Adik Aris dan Bima yang selalu memberikan semangat dan motivasi selama penulisan skripsi ini;
10. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku Laboran di Laboratorium Kimia Farmasi yang telah membantu dan membimbing penulis selama penelitian;
11. Laboran Laboratorium Mikrobiologi Bu Widi dan Mbak Parka yang telah memberikan bimbingan dalam penelitian ini;
12. Bapak Mustofa selaku petani jahe merah yang telah bersedia membantu setulus hati dan memberikan banyak pembelajaran selama penelitian ini;
13. Kawan seperjuangan *JMRG's Squad* (Mili, Firdha, dan Tsulsi) , *Chemistry's Squad* (Mellda, Agus, Tari, Yuvi, Fitri, Laili, Mila), *Sensor Squad* (Ari, Rafli, Yanti, Ayu, Putu, Zahra, Liya, Ain, Sheila, Arum, Leli, Resa, Rizki), *Bactery Squad* (Bang Huda, Alfia, Hanum, Erlinda, Leni), dan *Biologi Squad* (Yogi, Mace, Tika, Adinda, Tatik, Vita, Dalbong, Hilda, Yipin) terima kasih untuk kebersaman, motivasi, bantuan, dan dukungan selama penelitian ini;
14. Sahabat sekaligus keluarga *Bangs*t Moment* (Rizki dan Resa), *Lanangan Buncits* (Ari, Resa, Rizki, Dani, Bang Huda, Mijil, Syamsu, Alfi, Afif, Joppy, Rafli), dan *Sahabat Kencur* (Ari, Rafli, Agus, Riski, Joppy, Sri, Ain, Liya, Zahra, Putu, Sheila, Yogi, Dwi ayu, Rizka, Della, Tya) yang selalu memberikan keceriaan dan semangat untuk penulis;
15. Seluruh teman KKN UMD SDGs 20 (Tacik dina, Mas Yogi, Mas Alan, Iqbal, Chandra, Fauzil, Ervin, Cica dan Inung) yang telah memberikan motivasi dan dukungan penuh selama penulis menyelesaikan skripsi ini;
16. Keluarga Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas (BEMF) Farmasi atas semua pengertian, dukungan, semangat, do'a, dan persaudaraan yang sangat indah ini;
17. Teman-teman seperjuangan PHARMAGEN 2014, terima kasih atas kekeluargaan, persaudaraan, dan pengalaman indah ini;

18. Serta untuk setiap nama yang tidak dapat tertulis satu persatu, dan untuk seluruh doa yang terucap tanpa sepenuhnya pengetahuan penulis. Terima kasih sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang turut berbahagia atas keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan dan penulisan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan penelitian di masa mendatang.

Jember, 20 juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
DAFTAR ISI	ii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Umum Penyakit Infeksi	5
2.1.1 Definisi Penyakit Infeksi	5
2.1.2 Patogenisitas Penyakit Infeksi	6
2.1.3 Tanda dan Gejala klinis Penyakit Infeksi	6
2.1.4 Tinjauan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.1.5 Tinjauan <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2 Tinjauan Tinjauan Rhizoma Jahe Merah.....	9
2.2.1 Klasifikasi Jahe Merah	9
2.2.2 Deskripsi Tanaman Jahe Merah	10
2.2.3 Kandungan Kimia Rhizoma Jahe Merah	11
2.2.4 Penelitian Jahe Merah	12
2.3 Metode Pengujian Antibakteri.....	13
2.3.1 Metode difusi	13
2.3.2 Metode dilusi	14
2.3.3 Metode bioautografi	15
2.4 Tinjauan Metode Ekstraksi dan Fraksinasi.....	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Jenis Penelitian	19
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.3 Variabel Penelitian	19

3.3.1	Variabel Bebas	19
3.3.2	Variabel Terikat	19
3.3.3	Variabel Terkendali	19
3.4	Rancangan Penelitian	20
3.5	Alat dan Bahan	22
3.5.1	Alat	22
3.5.2	Bahan	22
3.6	Fraksinasi Ekstrak	23
3.7	Uji Aktivitas Antibakteri Rimpang Jahe Merah	24
3.7.1	Sterilisasi Alat dan Bahan	24
3.7.2	Penyiapan Media	24
3.7.3	Penanaman Bakteri	25
3.7.4	Peremajaan Biakan Murni	25
3.7.5	Pembuatan Stok Kerja Biakan Bakteri	26
3.7.6	Pembuatan Kontrol Positif an Kontrol Negatif	26
3.8	Uji Antibakteri.....	26
3.9	Analisis Data	27
3.10	Skema Penelitian	29
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1	Fraksinasi	30
4.2	Uji Aktivitas Antibakteri	31
BAB 5.	METODE PENELITIAN	41
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Bagian yang di infeksi dan bakteri penyebab infeksinya	5
3.1 Klasifikasi respon daya hambat pertumbuhan bakteri	28
4.1 Hasil Fraksinasi Sampel	30
4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri 6 sampel terhadap bakteri <i>P. aeruginosa</i> ..	33
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri 6 sampel terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	34
4.4 Respon Antibakteri 6 sampel terhadap bakteri <i>P. aeruginosa</i>	37
4.5 Respon Antibakteri 6 sampel terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	37
4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri n-heksana terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	35
4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri n-heksana terhadap bakteri <i>P. aeruginosa</i> ..	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.2 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.3 Jahe Merah	10
3.1 Skema rancangan penelitian	21
3.2 Skema alur fraksinasi rimpang jahe merah	24
3.3 Desain uji antibakteri metode difusi cakram	27
3.4 Skema alur penelitian uji aktivitas antibakteri	29
4.1 Hasil uji antibakteri metode difusi 6 sampel	32
4.2 Hasil uji antibakteri metode difusi Fraksi n-heksana	37

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi baik di indonesia maupun di dunia telah menjadi salah satu masalah terbesar. Mikroorganisme patogen seperti bakteri, parasit, virus, ataupun jamur adalah penyebab dari infeksi. Infeksi merupakan penyebab utama kematian di dunia (Mardiastuti dkk., 2007). Infeksi juga menjadi penyebab kematian didunia sebesar 22% pada abad ke-20 ini (Saker dkk., 2004). Data statistik WHO menyatakan bahwa infeksi masuk kedalam sepuluh besar penyakit penyebab kematian di Indonesia dengan persentase 9,5% dimana infeksi saluran pernafasan sebesar 5,2 % dan tuberkulosis sebesar 4,3% (WHO,2015). Korban akibat dari infeksi diseluruh dunia yaitu sekitar 13 juta orang per tahun (Cowan, 2012).

Hingga saat ini terapi yang digunakan untuk pengobatan infeksi yaitu dengan pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan banyak kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik (Kuswandi, 2011), serta timbulnya efek samping seperti hipersensitivitas, penekanan sistem imun, dan reaksi alergi (Bibi dkk., 2011). Resistensi antibiotik telah menjadi perhatian dunia (Westh dkk., 2004). Adanya resistensi antibiotik dan efek samping yang berlebihan tersebut menunjukkan bahwa perlu dikembangkannya antibakteri baru sebagai alternatif pengobatan antibakteri yang bersumber dari bahan alam. Selain itu, ada beberapa keuntungan menggunakan senyawa antimikroba dari bahan alam, seperti efek samping yang lebih sedikit, mudah diterima oleh pasien, lebih murah, dipercaya karena sejarah penggunaannya secara turun temurun, dan bersifat mudah di daur ulang (Gur dkk., 2006).

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai agen antibakteri adalah rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum). Berdasarkan bentuk, warna, dan ukuran rhizoma, di Indonesia terdapat 3 jenis varietas jahe, diantaranya yaitu jahe emprit (*Zingiber officinale* var. Amarum), jahe gajah (*Zingiber officinale* var. Roscoe), dan jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) (Kusumawati dkk., 2017).

Berdasarkan Penelitian, jahe merah memiliki aktivitas farmakologi sebagai antibakteri (Sekar dkk., 2014), antirheumatik (Shimoda, 2006), dan antihipertensi (Akiniyemi dkk., 2013). Menurut penelitian yang dilakukan Sari dkk (2013) melaporkan bahwa ekstrak segar rimpang jahe-jahean termasuk rimpang jahe merah mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Hal ini disebabkan karena ekstrak segar dan ekstrak rimpang jahe-jahean mengandung senyawa antimikroba golongan fenol, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri (Sari dkk., 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai aktivitas antibakteri pada jahe merah, sampel yang diuji hanya menggunakan ekstraknya (Handrianto, 2016) dan minyak atsirinya (Rialita dkk., 2015). Belum ada penelitian aktivitas antibakteri lebih lanjut untuk ekstrak dan fraksi-fraksi rimpang jahe merah terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian uji antibakteri ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dan fraksi- fraksinya terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi, dan ketika remaserasi digunakan pelarut etanol karena aman dan efektif (Morgan, 2009). Metode fraksinasi yang digunakan yaitu menggunakan corong pisah, adapun fraksi-fraksi tersebut yaitu fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu.

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dimana *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen gram negatif yang dapat menyebabkan berbagai gangguan kesehatan antara lain sepsis pneumonia, infeksi saluran kemih, bakteremia, serta kerusakan dan insufisiensi paru-paru pada pasien dengan fibrosis kistik (Lyczak dkk., 2000).

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang masuk ke dalam pembuluh darah atau jaringan dalam kulit akan menyebabkan beberapa potensi infeksi yang serius (Taylor dan Unakal, 2017). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang dapat menyebabkan infeksi bernanah dan toksin pada manusia serta infeksi kulit atau infeksi serius seperti pneumonia, mastitis, dan

infeksi saluran kencing (Todar, 2008). *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama pada manusia dibandingkan spesies genus *Staphylococcus* yang lain serta merupakan penyebab utama infeksi nosokomial akibat luka bedah dan infeksi yang berhubungan dengan penggunaan alat-alat medis (Todar, 2008).

Pengujian dilakukan untuk mengetahui ekstrak atau fraksi yang memiliki daya hambat pertumbuhan mikroba uji paling besar dan berpotensi untuk diteliti lebih lanjut sebagai dasar penemuan obat baru berbasis bahan alam. Metode yang digunakan untuk uji antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* adalah metode difusi cakram.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut maka permasalahan yang akan diungkap dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak etanol dan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Berapakah nilai diameter hambat ekstrak etanol dan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*?
3. Apakah nilai diameter hambat antara ekstrak etanol dan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* memiliki perbedaan yang signifikan ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui apakah ekstrak etanol dan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui berapakah nilai diameter hambat ekstrak etanol dan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.
3. Mengetahui apakah nilai diameter hambat antara ekstrak etanol dan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* memiliki perbedaan yang signifikan.

1.4 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) sebagai agen antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengasah kemampuan mahasiswa dalam melakukan uji antibakteri
3. Memberikan informasi data ilmiah nilai diameter hambat ekstrak etanol dan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* sebagai pengembangan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Penyakit Infeksi

2.1.1 Definisi Penyakit Infeksi

Infeksi adalah suatu keadaan dimana adanya invasi *host* oleh suatu mikroorganisme patogen. Virus, jamur dan bakteri merupakan beberapa contoh dari mikroorganisme tersebut. Patogen merupakan mikroba yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan menyebabkan penyakit. Infeksi dibagi menjadi dua yaitu infeksi klinis dan infeksi subklinis, dimana infeksi klinis merupakan infeksi yang dikaitkan dengan adanya tanda-tanda dan gejala yang jelas dari suatu penyakit sedangkan infeksi subklinis yaitu infeksi yang terjadi ketika pasien tidak menyadari adanya suatu infeksi (Irving dkk., 2006).

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme penyebab infeksi. Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler yang dibagi menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif misalnya *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Bacillus cereus*, sedangkan bakteri gram negatif misalnya *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumoniae* (Irving dkk., 2006). Beberapa infeksi dan bakteri penyebab infeksi terdapat pada Tabel 2.1 berikut.

Tabel 2.1 Bagian yang di infeksi dan bakteri penyebab infeksinya

(Sumber: Koda-kimble dkk., 2009)

Bagian yang diinfeksi	Bakteri
Saluran pernafasan	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , genus <i>Klebsiella</i> , dan <i>Pseudomonas</i>
Saluran pencernaan	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Clostridium difficile</i> , <i>Helicobacter</i> , dan <i>Campylobacter</i>
Saluran kemih	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , dan <i>Staphylococcus epidermidis</i> .

2.1.2 Patogenisitas Penyakit Infeksi

Penyakit infeksi dapat terjadi melalui beberapa tahapan yaitu transmisi, invasi, motilitas, dan penghindaran kekebalan tubuh. Transmisi yaitu tahapan mikroorganisme patogen berikatan dengan inang atau *host*, kemudian invasi yaitu tahapan mikroorganisme patogen menyerang dan menembus dinding penghalang mukosa atau membran sel inang, selanjutnya yaitu motilitas yaitu tahapan mikroorganisme patogen mencari sumber makanan baru dan dapat meningkatkan patogenisitas, dan penghindaran kekebalan tubuh yang bertujuan supaya mikroorganisme patogen dapat bertahan hidup dalam tubuh inang. Bakteri patogen dapat menyebabkan gangguan kesehatan infeksi karena toksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Toksin tersebut dibagi menjadi dua yaitu eksotoksin dan endotoksin. Eksotoksin dapat berupa protein dan dapat menimbulkan kerusakan lokal maupun sistemik. Endotoksin dapat menyebabkan penyakit *shock* dan demam dimana endotoksin dapat merangsang makrofag untuk memproduksi sitokin seperti *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dan *Interleukin-1* (IL-1) (Gillepsie dan Bamford, 2012).

2.1.3 Tanda dan Gejala Klinis Infeksi

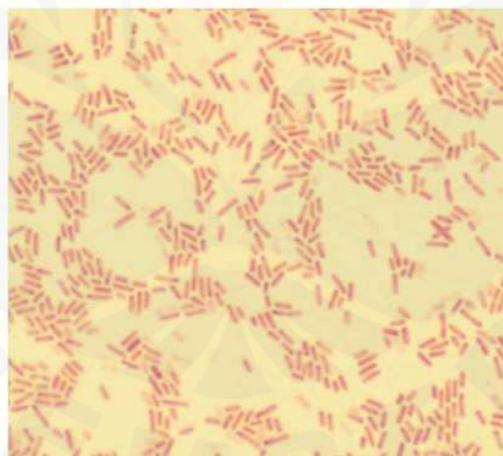
Penyakit infeksi biasanya ditandai dengan meningkatnya jumlah neutrofil yang matang dan yang belum matang didalam sirkulasi darah. Mekanisme tersebut melibatkan demarginasi dan pelepasan granulosit immature, IL-1, IL-6, dan neutrofil dari sumsum tulang (Tunkel, 2016). Infeksi ditandai dengan meningkatnya jumlah leukosit. Dapat dikatakan adanya suatu infeksi bila terdapat minimal dua kondisi berikut, yaitu meningkatnya suhu (demam), peningkatan *respiration rate*, peningkatan leukosit, dan peningkatan denyut nadi (Kementerian Kesehatan RI, 2011). Beberapa tanda klinis penyakit infeksi yaitu sindrom inflamasi sistemik (gejala hipo/hipertemia, leukopenia, leukositosis, takipenia, dan takikardi), sepsis, sepsis setidaknya satu organ dengan disfungsi akut, dan *shock* sepsis (terjadi hipotensi hingga tingkat membahayakan)(Warrel dkk., 2012).

2.1.4 Tinjauan *Pseudomonas aeruginosa*

Taksonomi dari *Pseudomonas aeruginosa* yaitu :

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Dao, 2016)

Pseudomonas merupakan bakteri gram negatif yang bersifat motil karena memiliki flagel dan bersifat aerubik. *P. aeruginosa* terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda, dan kadang-kadang dalam rantai pendek. *P aeruginosa* berbentuk batang dan berukuran sekitar $0,6 \times 2 \text{ } \mu\text{m}$. *P aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu $37\text{-}42^\circ\text{C}$ (Wu dkk., 2014).



Gambar 2.1 Morfologi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Sumber: Brooks dkk., 2013)

Pseudomonas aeruginosa merupakan penyebab infeksi terutama pada pasien dengan mekanisme sistem imun yang menurun. Bakteri ini merupakan patogen nosokomial utama, yaitu kejadian infeksi yang berasal dari rumah sakit dan fasilitas pelayanan kesehatan lainnya. Bakteri ini menyebabkan beberapa penyakit serius, seperti pneumonia, infeksi paru-paru kronis, infeksi keratitis

ulseratif, infeksi saluran kemih, dan bakterimia pada pasien dengan luka bakar (Lyczak dkk., 2000).

2.1.5 Tinjauan *Staphylococcus aureus* :

Taksonomi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Family : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008)

Morfologi *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.2. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat (coccus) yang mirip seperti anggur apabila dilihat melalui mikroskop. Ciri-ciri bakteri *S. aureus* adalah memiliki ukuran diameter 1,0 μm berbentuk susunan kelompok yang tidak beraturan, tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Koloni bakteri ini bervariasi dari yang berwarna abu-abu hingga kuning emas tua dan berbentuk rantai (Jawetz dkk., 2007).



Gambar 2. 2 Morfologi *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008)

Bakteri *S. aureus* dapat tumbuh pada berbagai pemberian dan tumbuh dengan cepat pada suhu 37°C tapi membentuk pigmen yang paling baik pada

suhu kamar (21°C). Pigmen yang dihasilkan bakteri *S. aureus* bervariasi dari kuning tua hingga putih, bakteri ini memiliki metabolisme aktif dan dapat meragikan karbohidrat. Macam-macam bentuk dari koloni pada pemberian padat yaitu halus, bulat, berkilau dan menonjol. Agar Mueller Hinton, Nutrient Agar dan Agar Gliseril Monostearat merupakan beberapa contoh media yang dapat digunakan untuk pembiakan bakteri *S. aureus* (Jawetz dkk., 2007).

Bakteri ini tumbuh optimum pada pH 7,0 – 7,5, namun juga dapat tumbuh pada rentang pH 4,0 – 9,8. substrat dengan komposisi yang baik merupakan syarat apabila Pertumbuhan pada pH mendekati 9,8. Perlu 11 asam amino untuk didapatkannya pertumbuhan yang optimum dari bakteri ini. Media sintetik tidak cocok untuk menumbuhkan bakteri ini, karena tidak ada asam amino ataupun protein didalamnya dan bakteri tidak akan tumbuh (Supardi dan Sukanto, 1999).

S. aureus menginfeksi manusia terutama pada daerah nasal, membran mukosa, saluran pernafasan, serta saluran pencernaan. *S. aureus* menyebabkan bermacam-macam infeksi yang membentuk nanah dan bersifat toksin pada manusia (Todar, 2008). *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi seperti bisul, mastitis, pneumonia, meningitis, endokartis dan lain-lain. Sifat khas *S. aureus* yang bersifat patogen adalah penahanan lokal. *S. aureus* membentuk enterotoksin yang stabil pada pemanasan. Keracunan makanan seperti mual, diare dan muntah-muntah merupakan gejala yang disebabkan oleh Enterotoksin (Todar, 2008).

2.2 Tinjauan Rhizoma Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

2.2.1 Klasifikasi Jahe Merah

Klasifikasi tanaman jahe merah menurut ITIS dan Arctose Database 2017 adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Tracheophyta

Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Lilianae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: Zingiber officinale
Varietas	: Zingiber officinale var. Rubrum

2.2.2 Deskripsi Tanaman Jahe Merah

Di Indonesia terdapat 3 jenis varietas jahe yang diklasifikasikan berdasarkan bentuk, warna, dan ukuran rhizomanya, diantaranya yaitu jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*), jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *Roscoe*), dan jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) (Kusumawati dkk., 2017). Selain sebagai bahan untuk membuat bumbu masak, jahe secara empiris juga dapat digunakan sebagai komponen penyusun berbagai ramuan obat, diantaranya ramuan untuk mengatasi radang, meningkatkan daya tahan tubuh, batuk, luka, dan alergi akibat gigitan serangga (Rahminiwati, 2010). Rimpang jahe merah memiliki rasa yang sangat pedas dan aroma yang sangat tajam. Tanaman jahe merah ditunjukkan morfologinya pada gambar 2.2 (a). Jahe merah memiliki bentuk bulat kecil dan agak keras karena diselubungi oleh pelepas daun, memiliki batang berwarna hijau kemerahan. Tinggi tanaman sekitar 34,2 – 62,3 cm. Daun jahe merah tersusun berselang-seling teratur dengan warna pada bagian bawah yang lebih gelap dari pada bagian atasnya. Luas daun jahe merah sekitar 32,6-51,2 cm², yang panjangnya sekitar 24,3-24,8 cm, lebar tajuk sekitar 2,8-31,2 cm, dan lebar sekitar 36,9-52,9 cm (Herlina dkk., 2002).

Serat kasar dan memiliki warna merah hingga muda merupakan ciri khas yang dimiliki rimpang jahe merah seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.2 (b). Jahe merah memiliki rimpang yang berukuran lebih kecil dari jenis jahe lainnya, panjang rimpang sekitar 12,3-12,6 cm, tinggi rimpang 5,7-7 cm, dan berat rata-rata rimpang sekitar 0,3-1,2 kg. Diameter akarnya yang berserat yang

agak kasar sekitar 5,4-5,5 cm, dan panjang 17-24,1 cm. Keadaan lingkungan tumbuh, misalnya teknik budidaya yang dilakukan, kesuburan tanah, dan karakteristik gen pembawa sifat dapat mempengaruhi ukuran besar atau kecilnya rimpang jahe merah (Herlina dkk., 2002).



Gambar 2.3 (a) Morfologi Rimpang Jahe Merah; (b) Morfologi Tanaman Jahe Merah
(Sumber: Hapson, 2008).

2.2.3 Kandungan Kimia Rimpang Jahe Merah

Rimpang jahe secara umum mengandung 2 komponen senyawa kimia yaitu komponen minyak menguap (*volatile oil*) dan komponen minyak tidak menguap (*nonvolatile oil*). Komponen minyak menguap seperti minyak atsirinya merupakan komponen yang bertanggung jawab terhadap bau khas pada jahe dengan kandungan terbanyak yaitu zingiberol dan zingiberen (Bermawie dkk., 2011). Komponen minyak tidak menguap seperti oleoresin misalnya [6]-gingerol, [8]-gingerol, dan [10]-gingerol merupakan komponen yang bertanggung jawab terhadap rasa pahit dan pedas pada jahe (Akinyemi dkk., 2013).

Kandungan kimia dari rimpang jahe merah segar yaitu oleoresin sekitar 5-8 % dan lipid atau glikolipid lebih dari 9%. Kandungan oleoresin rimpang jahe merah termasuk tinggi, ditandai dengan rasa yang lebih pedas dari dua varietas jahe lainnya (Herlina dkk., 2002). Komponen utama oleoresin dari jahe merah yaitu gingerol (Churbasik dkk., 2005) dan juga shogaol yang terbentuk dari dehidrasi gingerol selama proses pemanasan maupun penyimpanan (Ali dkk., 2008; Jayanudin, dkk., 2015). Kedua senyawa tersebut yaitu gingerol dan shogaol

termasuk dalam golongan senyawa fenol (Oboh dkk., 2012). Mulyani (2010) menyatakan bahwa α -pinena, kamfena, kariofilena, α -farnesena, sineol, β -pinena, dl-kamfor, isokariofilena, kariofilena-oksida, dan germakron merupakan komponen minyak atsiri pada jahe-jahean yang dapat menghasilkan antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Mulyani, 2010).

Kandungan pati (53%), minyak atsiri (4%), dan ekstrak yang larut dalam pelarut alkohol (10%) jahe merah lebih tinggi dibandingkan dua varietas jahe lainnya yaitu jahe gajah (44 % kandungan pati, 3% minyak atsiri, dan 6% ekstrak yang larut dalam pelarut alkohol) dan jahe emprit (41,5% kandungan pati, 3,5% minyak atsiri, dan 7% ekstrak yang larut dalam pelarut alkohol) (Hernani dan Hayani, 2001).

2.2.4 Penelitian Jahe Merah

Jahe secara luas digunakan sebagai bahan tambahan pada berbagai jenis makanan, minuman maupun obat. Jahe merupakan tanaman obat yang banyak digunakan pada Ayurvedic, Tibb-Unani dan Pengobatan tradisional China (Guo dkk., 2014). Kandungan minyak atsiri dari jahe merah yang lebih tinggi dibanding dua varietas jahe lainnya membuat jahe merah sering digunakan sebagai komponen ramuan obat, misalnya untuk pengobatan herbal terapi rheumatoid arthritis (Safitri, 2016), aterosklerosis (Uthia dkk., 2016), hiperkolesterol (Akiniyemi dkk., 2013), depresi (Panjaitan dkk., 2012), penyakit gastro intestinal (GI) (Poeloengan, 2011), inflamasi (Shimoda, 2010), dan impotensi (Anandita dkk., 2012). Selain itu jahe merah dapat digunakan sebagai peringatan gejala flu, dan juga peringatan rasa nyeri saat haid (Ahmad Hassan dkk., 2010).

Efek antioksidan, imunomodulator, antitumorigenik, antiviral, dan antimikroba dilaporkan pada penelitian jahe merah secara *in vitro* (Churbasik dkk., 2005). Zona penghambatan yang lebih luas terhadap bakteri patogenik gram positif (*Streptococcus pyogenes* dan *Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*) ditunjukkan ekstrak jahe merah dibandingkan ekstrak jahe putih, dengan zona penghambatan sebesar 16-28 mm pada konsentrasi 100, 200, dan 500 μ l/mL (Sekar dkk., 2014). Menurut penelitian

yang dilakukan Sari dkk (2013) melaporkan bahwa ekstrak segar rimpang jahe-jahean termasuk rimpang jahe merah mampu menghambat pertumbuhan beberapa mikroba diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Hal ini disebabkan karena ekstrak segar dan ekstrak rimpang jahe-jahean mengandung senyawa antimikroba golongan fenol, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri (Sari, dkk., 2013).

Pada penelitian yang dilakukan Handrianto (2016) melaporkan bahwa *Gingerol* merupakan kandungan kimia yang terkandung pada jahe dan bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Senyawa ini merupakan senyawa turunan fenol yang berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorbsi dengan melibatkan ikatan hidrogen. (Handrianto, 2016).

2.3 Metode Pengujian Antibakteri

Untuk mengetahui potensi suatu bahan dalam menghambat bakteri dapat digunakan metode uji antibakteri. Uji antibakteri tersebut dapat dilakukan dalam beberapa metode yaitu sebagai berikut :

2.3.1 Metode Difusi

Metode difusi dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu metode lubang atau sumuran dan metode kertas cakram. Metode difusi kertas cakram prinsipnya yaitu penyebaran agen antimikroba dari konsentrasi tertentu dari *disk*, strip ataupun tablet ke dalam media kultur padat yang unggul dengan inokulum yang dipilih dan diisolasi dengan murni. Pada dasarnya metode difusi *disk* yaitu untuk menentukan zona penghambatan yang kerentanan bakteri hingga saat antimikroba dalam *disk* yaitu sebanding (O.I.E., 2012). Pada metode ini, sejumlah bakteri diinokulasikan pada media agar dan cakram yang mengandung larutan uji atau antibakteri tertentu dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah memadat. Setelah diinkubasi terlihat daerah hambatan sebagai zona bening yang tidak ditumbuhi bakteri di sekeliling cakram. Metode ini praktis dan sederhana, dalam pengerjaannya tes ini bersifat kualitatif yang dilakukan dengan menggunakan kertas cakram berporos yang mengandung zat antibakteri. Pada metode ini

penghambatan pertumbuhan ditujukan oleh luasnya zona bening di sekitar cakram (Brander dkk., 1999).

Beberapa pertimbangan digunakannya metode difusi *disk* cakram adalah murah, sederhana, memudahkan untuk memodifikasi *disk* uji antimikroba yang bila diperlukan, dapat digunakan untuk tes skrining terhadap sejumlah besar isolat, dan dapat mengidentifikasi subset dari isolat untuk pengujian metode lain lebih lanjut, misalnya seperti penentuan MIC. Disamping itu kerugian yang dimiliki metode difusi ini yaitu pengukuran manual dari zona hambat yang terbentuk (O.I.E., 2012). Metode difusi ini secara umum banyak digunakan karena peralatan dan bahan yang mudah didapatkan. Diameter hambatan secara langsung pada praktiknya responsif terhadap konsentrasi antibiotik. Menurut penelitian David dkk. (1971) melaporkan bahwa keutamaan metode difusi ini adalah efisiensi dan sensitifitasnya yang tinggi (Assay, 1971).

Metode lubang atau sumuran prinsipnya yaitu membuat lubang atau sumuran pada agar yang sudah dipadatkan lalu diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan metode penelitian, setelah itu dipipet sejumlah sampel uji kedalam lubang. Lalu dilakukan inkubasi selama 18-24 jam, setelah diinkubasi diamati pertumbuhan bakteri untuk melihat ada atau tidaknya zona hambat disekitar lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

2.3.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua macam yaitu dilusi padat dan dilusi cair. Prinsip dari kedua metode ini sama, yang membedakan hanyalah media yang digunakan (Pratiwi, 2008). Metode dilusi ini banyak digunakan dalam penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) suatu ekstrak, minyak essensial, ataupun substansi murni. Metode ini lebih dikenal sebagai skrining awal aktivitas antimikroba (Rios dkk., 1998). Sejumlah obat antimikroba tertentu dibuat beberapa seri pengenceran lalu dicampurkan pada media cair atau padat, kemudian media ditanami bakteri uji dan diinkubasi (Jawetz dkk., 1995). Pada metode dilusi padat penentuan KHM ditetapkan dari larutan uji dengan kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ditandai adanya pertumbuhan mikroba uji

(Pratiwi, 2008). Pada metode dilusi cair, kekeruhan dijadikan indikasi bakteri, bila sampel tidak aktif terhadap kuman yang diuji dan ada pertumbuhan, maka tampak keruh, begitupula sebaliknya apabila tidak terdapat pertumbuhan maka media tetap terlihat jelas. Adapun keuntungan dari metode dilusi ini yaitu cepat, sederhana, dan dapat menggunakan pelarut minyak essensial apabila tidak larut dalam air (Rios dkk., 1988).

Metode mikrodilusi dapat menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari beberapa macam sampel dan jumlah sampel yang dibutuhkan sedikit. Hal ini perlu diperhatikan bila senyawa antimikroba yang ingin diuji dalam jumlah yang terbatas, hal ini terjadi pada banyak bahan alam. Keuntungan dari metode ini yaitu dapat digunakan pada mikroorganisme yang beragam, menghasilkan hasil yang terulang, dan tidak mahal (Ellof, 1998). Selain itu dengan metode ini dapat dibedakan antara efek bakteriostatik dan bakterisidal, serta secara kuantitatif dapat menentukan nilai KHM (Langfield dkk., 2004).

Metode mikrodilusi ini menggunakan microplate sebagai instrumennya. Setiap sumur pada microplate diisi oleh sampel uji , dan kultur bakteri. Pada metode mikrodilusi biasanya digunakan jumlah kultur bakteri 1×10^6 CFU/mL (Basri dan Fan, 2005). Larutan McFarland dibuat dari campuran barium klorida dan asam sulfat sehingga menghasilkan larutan yang keruh. Untuk dihasilkannya bakteri dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, kultur cair bakteri disamakan absorbannya dengan absorban McFarland 0,5 (antara 0,08 sampai 0,1) (Basri dan Fan, 2005).

2.3.3 Metode Bioautografi

Metode bioautografi merupakan metode yang melokalisasi aktivitas antimikroba pada kromatogram. Metode yang sering digunakan yaitu bioautografi langsung, namun terdapat kesulitan tertentu dan butuh menggunakan peralatan mikrobiologi yang sesuai. Pada penelitian yang dilakukan Lund dan Lyon (1975) dan Homan dan Fuchs (1970) melaporkan bahwa metode ini memiliki permasalahan yang sering timbul yaitu difusi senyawa yang berbeda dari kromatogram ke agar yang disederhanakan langsung oleh deteksi bioautografi.

Pencelupan bioautografi juga didasarkan pada difusi senyawa terpisah dan kelebihan metode ini yaitu tingkat kontaminasi yang minimal (Rios dkk., 1988).

2.4 Tinjauan Metode Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan senyawa kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga bahan yang larut tersebut terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Ekstrak merupakan hasil dari proses ekstraksi (Dirjen POM, 2000). Ekstraksi *solid-liquid* sering digunakan pada simplisia tanaman, dimana terdapat kontak antara simplisia dengan solven. Solven harus mampu melarutkan metabolit didalam sel, berdifusi kedalam sel, dan berdifusi keluar bersama metabolit tersebut (Sekar dkk., 2007).

Tujuan dibuatnya ekstrak adalah untuk menstandardisasi kandungannya sehingga menjamin keseragaman mutu, khasiat, dan juga keamanan produk akhir. Penggunaan ekstrak dibandingkan dengan simplisia memiliki beberapa keuntungan diantaranya lebih sederhana dari segi bobot dan pemakaianya dan lebih sedikit dibandingkan bobot tumbuhan asalnya (Dirjen POM, 2000). Untuk mendapatkan ekstrak yang berkualitas, terdapat beberapa parameter khusus diantaranya yaitu pelarut, bagian tanaman, dan prosedur yang digunakan untuk ekstraksi. Pada metode ekstraksi yang berbeda dapat terjadi variasi yang berpengaruh terhadap komposisi dan kuantitas metabolit ekstrak, adapun faktor yang mempengaruhi variasi tersebut tergantung pada beberapa hal, yaitu waktu dan jenis ekstraksi, sifat dan konsentrasi pelarut, suhu, dan polaritas (Pandey dkk., 2014).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara dingin maupun cara panas. Cara dingin dapat dilakukan dengan metode perkolasai dan maserasi, sedangkan cara panas dapat dilakukan dengan metode soxhlet dan refluks (Depkes RI, 2000).

Merasasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan pengadukan beberapa kali pada suhu ruang. Prosesnya yaitu mula-mula perendaman simplisia didalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan yang dilakukan bertujuan untuk meningkatkan kecepatan ekstraksi

dan juga untuk memecahkan dan melunakkan dinding sel tanaman agar lebih mudah dalam penarikan kandungan fitokimia di dalamnya (Azwanida, 2015). Proses tersebut dilanjukan hingga tidak ada metabolit dalam simplisia yang dapat ditarik lagi oleh pelarut. Umumnya sampel yang digunakan digiling ataupun dipotong hingga berbentuk partikel kecil untuk meningkatkan penetrasi solven (Sarker dkk., 2007).

Maserasi adalah metode yang tidak menggunakan proses pemanasan, sehingga metode ini dapat digunakan pada metabolit bersifat *thermolabile*. Hasil maserasi ditentukan oleh pemilihan pelarut yang sesuai. Memilih pelarut yang dapat melarutkan metabolit merupakan faktor utama dalam pemilihan pelarut yang akan digunakan (Depkes RI, 2000). Kelebihan dari metode maserasi adalah nyaman dan murah untuk usaha kecil dan menengah dibanding dengan metode ekstraksi modern lainnya (Azwanida, 2015). Kekurangan dari metode maserasi adalah prosesnya yang lama. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar, tetapi ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar, sehingga metabolit yang tidak tahan panas tidak terdegradasi (Ditjen POM, 2000). Pada penelitian ini pelarut etanol dipilih ketika maserasi karena ekstrak etanol sering digunakan pada pengobatan herbal dengan alasan efektif dan juga aman (Morgan, 2009). Sebagai pelarut etanol juga mempunyai beberapa kelebihan yaitu relatif tidak bersifat racun, tidak eksplosif bila bercampur dengan udara, absorbsinya baik, tidak korosif, lebih sedikit panas yang diperlukan untuk pemekatan dan juga mudah didapatkan (Lestari, 2015).

Fraksinasi merupakan proses pemisahan zat berdasarkan tingkat kepolaran zat dari ekstrak yang didapat dari proses ekstraksi. Fraksinasi pada umumnya dimulai dari kepolaran rendah hingga tinggi, yaitu dimulai dari non polar, semi polar, dan polar yang berdasarkan hukum *like dissolve like* menggunakan metode kromatografi kolom maupun metode partisi cair-cair (*separatory funnel*) (Saifudin, 2014).

Pada metode partisi cair-cair, ketika solven ditambahkan pada ekstrak yang terlarut di solven lain yang tidak bercampur dengan solven yang baru ditambahkan, maka akan terbentuk dua lapisan. Komponen-komponen yang ada

dalam ekstrak akan terlarut pada kedua lapisan tersebut, yang mana lapisan tersebut disebut fase. Kesetimbangan konsentrasi akan terbentuk pada kedua fase selang beberapa lama didiamkan. Pengocokan kedua fase secara merata dapat mempersingkat waktu pencapaian kesetimbangan. Senyawa-senyawa yang bersifat termolabil tidak akan rusak ketika proses pemisahan berlangsung, karena metode partisi cair-cair tidak menggunakan proses pemanasan (Houghton dan Raman, 2012).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis Penelitian uji antibakteri ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* yang dilakukan adalah jenis penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium kimia, Laboratorium Analisis Instrumen, Laboratorium biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan Maret 2018 hingga selesai.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol dan juga fraksi rimpang jahe merah yaitu 1%, 5%, 10%, dan 15% dan 20%

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai diameter hambat dalam uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi rimpang jahe merah pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

3.3.3 Variabel Terkendali

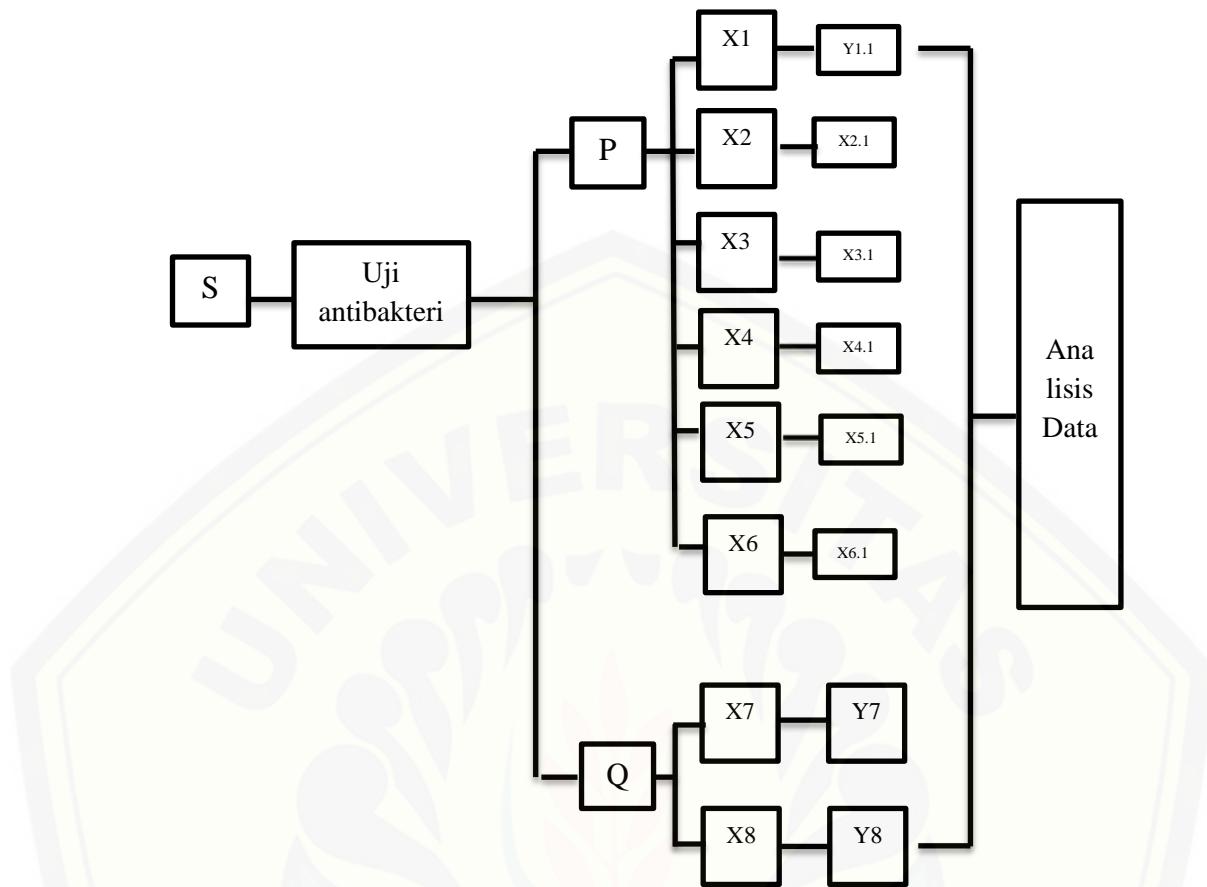
Variabel terkendali pada penelitian ini adalah :

1. Pembuatan ekstrak etanol rimpang jahe merah
2. Pembuatan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu.
3. Pembuatan biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*
4. Suhu inkubasi bakteri 37°C selama 24 jam
5. Metode Pengamatan diameter zona hambat
6. Prosedur Penelitian

3.4 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dengan rancangan penelitian yang dilakukan adalah *the post test only control group design*. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Diameter zona hambat diukur pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Mula-mula untuk mendapatkan ekstrak cair rimpang jahe merah, dilakukan proses maserasi serbuk yang kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan pemekatan di oven pada suhu 40°C. Setelah ekstrak kental terbentuk dilanjutkan proses selanjutnya yaitu fraksinasi menggunakan pelarut metanol, n-butanol, kloroform, etil asetat, dan n-heksana dengan perbandingan 1 : 2. Setelah itu fraksi cair dibiarkan hingga mengental di lemari asam selama beberapa hari lalu didapatkanlah fraksi. Setelah didapatkan fraksi dilakukan uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol dan fraksi rimpang jahe merah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 20%, setelah didapatkan data diameter zona bening dipilih satu fraksi terbaik dengan zona hambat terbesar yang selanjutnya akan diuji dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15%. masing-masing konsentrasi uji dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

- S = sampel
- P = kelompok perlakuan
- Q = kelompok kontrol
- X1 = ekstrak etanol rimpang jahe merah konsentrasi 20%
- X2 = residu rimpang jahe merah konsentrasi 20%
- X3 = fraksi n-butanol rimpang jahe merah konsentrasi 20%
- X4 = fraksi kloroform rimpang jahe merah konsentrasi 20%
- X5 = fraksi etil asetat rimpang jahe merah konsentrasi 20%
- X6 = fraksi n-heksana rimpang jahe merah konsentrasi 20%
- X7 = DMSO 10% (kontrol negatif)

- X8 = cakram antibiotik gentamisin (kontrol positif)
- Y1.1 = data hasil konsentrasi ekstrak etanol rimpang jahe merah sebesar 20%
- Y2.1 = data hasil konsentrasi residu rimpang jahe merah sebesar 20%
- Y3.1 = data hasil konsentrasi fraksi n-butanol rimpang jahe merah sebesar 20%
- Y4.1 = data hasil konsentrasi Fraksi kloroform rimpang jahe merah sebesar 20%
- Y5.1 = data hasil konsentrasi fraksi etil asetat rimpang jahe merah sebesar 20%
- Y6.1 = data hasil konsentrasi fraksi n-heksana rimpang jahe merah sebesar 20%
- Y7 = data hasil DMSO 10% (kontrol negatif)
- Y8 = data hasil antibiotik gentamisin (kontrol positif)

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

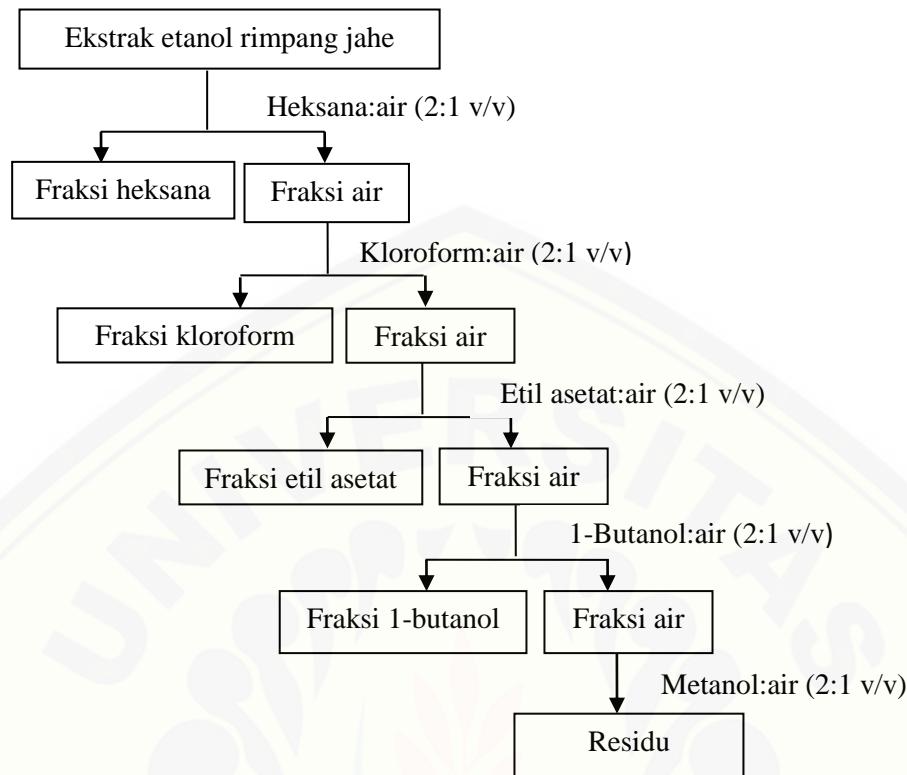
Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, *rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), seperangkat alat gelas, corong pisah, autoklaf (ALP), penghalus serbuk, *hot-plate stirer*, inkubator (CLIFTON), jarum ose, cawan penguap, wadah maserasi, *buchner*, timbangan analitik (Sartorius), oven, spatula, *ultrasonic cleaner*, pinset, *laminar air flow* (Airtech), mikropipet (SOCOREX), Jangka sorong (TRICLE BRAND), pipet tetes, pipet volume , *yellow tip*, *blue tip*, dan white tip

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang jahe merah berasal dari petani di Kecamatan Kencong Kabupaten Jember, etanol 96 %, metanol, heksana pa (Merck), kloroform pa (Merck), etil asetat pa (Merck), 1-butanol pa (Merck), metanol pa (Merck), *aquadest*. Bahan yang digunakan untuk uji antibakteri yaitu *aquadest* steril, NaCl fisiologis dan Mc Farland 0,5. Bakteri uji yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Media bakteri yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA). Zat pembanding antibakteri atau kontrol positif yang digunakan adalah gentamisin cakram 10 μ g.

3.6 Fraksinasi Ekstrak

Ekstrak kental yang sudah diperoleh dari penelitian sebelumnya difraksinasi bertingkat dengan menggunakan pelarut heksana, kloroform, 1-butanol, etil asetat dan metanol. Fraksinasi ekstrak dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 29,0522 g ekstrak etanol rimpang jahe merah lalu kemudian dibagi tiga sehingga masing-masing 9,684 g dan diencerkan dengan aquadest 75 ml. Perbandingan pelarut fraksinasi dengan ekstrak adalah 2 : 1 (Bibi *et al.*, 2011), sehingga semua pelarut menggunakan volume 150 ml. Selanjutnya campuran dimasukkan kedalam corong pisah kapasitas 500 ml dan dilakukan pengocokan berulang. Campuran dikocok selama kurang lebih 15 menit dan dibiarkan hingga jenuh yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan. Lapisan tersebut dipisahkan lalu setiap fraksi diuapkan di lemari asam. Fraksi-fraksi tersebut dihitung rendemennya dan dilakukan uji aktivitas antibakteri. Alur fraksinasi dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema alur fraksinasi rimpang jahe merah

3.7 Uji Aktivitas Antibakteri Rimpang Jahe Merah

3.7.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Proses awal dimulai dengan sterilisasi alat seperti seperangkat alat gelas dan tip dan juga bahan seperti media NA dan MHA, Nacl fisiologis, serta aquadest yang dibungkus dengan kertas coklat untuk disterilisasi di autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Alat yang lain seperti ose dapat disterilisasi dengan pemijaran sedangkan untuk alat yang tidak tahan panas dapat disterilisasi menggunakan alkohol.

3.7.2 Penyiapan Media

1.) Media NA untuk Penanaman dan Peremajaan Bakteri

Pembuatan media Na dibuat agar miring unuk penanaman dan peremajaan bakteri, dilakukan dengan cara melarutkan 0,7 gram NA dalam 35 mL aquadest. Kemudian suspensi yang dihasilkan dipanaskan hingga mendidih di dalam erlemeyer 100 mL. Setelah itu suspensi dimasukkan kedalam 6 tabung reaksi 15 mL masing - masing sebanyak 5 mL yang selanjutnya tabung reaksi tersebut disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Media steril didalam tabung reaksi kemudian dimiringkan hingga terbentuk agar miring.

2.) Media MHA untuk Uji Difusi

Pembuatan media MHA untuk uji difusi dilakukan dengan cara menimbang 3,42 gram MHA dan dilarutkan dengan aquadest 100 mL . Kemudian suspensi yang dihasilkan dipanaskan hingga mendidih di dalam erlemeyer 250 mL. Setelah itu suspensi dimasukkan dalam 6 tabung reaksi 20 mL masing - masing sebanyak 15 mL yang selanjutnya tabung raksi tersebut disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Media steril didalam tabung reaksi kemudian dituang ke dalam 6 cawan petri yang sudah disterilisasi.

3.7.3 Penanaman Bakteri

Bakteri ditanam pada media NA yang sudah dibuat sebelumnya. Mula-mula bakteri murni diambil dari kemasannya, dimana bakteri murni ini berbentuk loop pada bagian ujungnya sehingga dapat langsung digores dengan cara menggoreskan di empat sisi dimana modelnya zig-zag. Kemudian disimpan dan didiamkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam untuk mengetahui apakah bakteri tumbuh atau tidak.

3.7.4 Peremajaan Biakan Murni

Untuk meremajakan biakan bakteri murni dapat dilakukan dengan cara menggoreskan jarum ose yang sudah mengandung bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* secara aseptis dibawah LAF dan saat

menggoreskan jarum ose tersebut dilakukan dengan mendekatkan mulut tabung reaksi pada nyala api. Setelah proses tersebut media agar miring ditutup rapat dengan *plastic wrap*, kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

3.7.5 Pembuatan Stok Kerja Biakan Bakteri

Sebanyak 0,05 gram NaCl dilarutkan dalam 5 mL aquadest, kemudian dimasukkan bakteri kedalam larutan NaCL, lalu dibandingkan tingkat kekeruhannya dengan Mc.Farland 0,5%. Cara membuat Mc.Farland 0,5% yaitu dengan mengambil H₂SO₄ 1% sebanyak 0,1 mL dan ditambahkan aquadest hingga 10 mL. Kemudian untuk BaCl₂ 1% ditimbang sebanyak 0,01 gram ditambahkan aquadest hingga 1 mL. Dari vial H₂SO₄ diambil 50µl dibuang dan ditambahkan BaCl₂ 50µl.

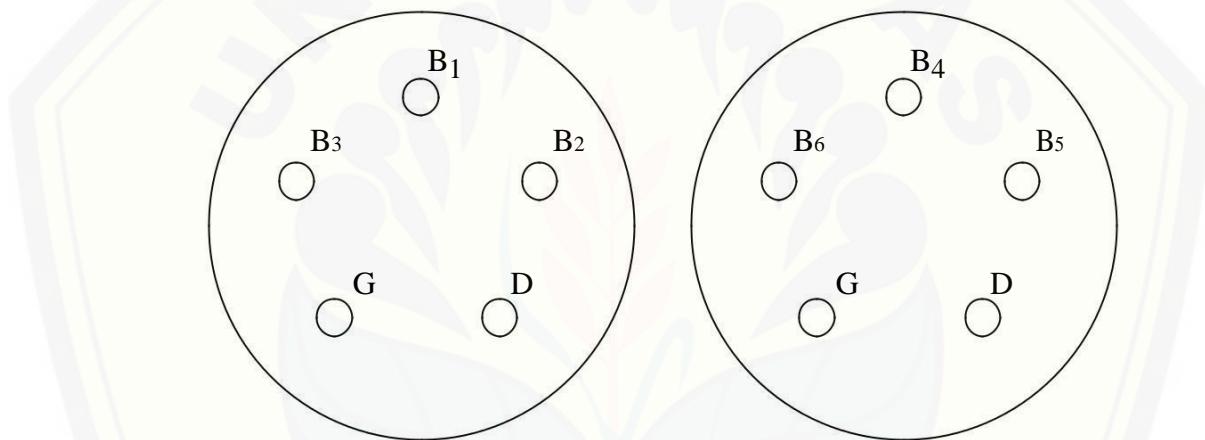
3.7.6 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif yang digunakan pada uji difusi ini adalah cakram gentamisin dengan kadar 10 µg. kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10%.

3.8 Uji Antibakteri

Uji antibakteri dengan metode difusi dilakukan pada 8 kelompok. Dimana 6 kelompok merupakan kelompok perlakuan ekstrak etanol, fraksi n-butanol, kloroform, etil asetat, n-heksana dan residu rimpang jahe merah dengan seri konsentrasi 20% b/v, kemudian satu kelompok uji berisi kontrol negatif yaitu DMSO 10% dan satu kelompok uji lainnya berisi kontrol negatif yaitu gentamisin cakram. Kemudian kelompok perlakuan yang memiliki aktivitas tertinggi dilakukan pengujian lanjutan dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15%. Media MHA dalam cawan petri diinokulasikan suspensi bakteri dalam NaCl 0,9% yang turbiditasnya sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 sebanyak 100 µL, sehingga setiap cawan petri mengandung 10⁷ CFU. Suspensi

bakteri pada agar diratakan dengan *spreader*. Cakram steril diameter 6 mm direndam dalam 10 μL larutan uji (ekstrak atau fraksi, kontrol positif, dan kontrol negatif) selama 24 jam. Letakkan cakram steril tersebut di atas agar yang sudah mengandung bakteri menggunakan pinset steril. Media bakteri yang sudah diberi kontrol serta perlakuan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong untuk menentukan efektivitas dari antibakteri. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali untuk setiap konsentrasi uji. Desain Desain cawan petri ditunjukkan oleh gambar 3.3.



Gambar 3.3 Desain Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram

Keterangan :

- B₁₋₆ : Sampel uji (Ekstrak etanol, Fraksi n-heksana, kloroform, butanol, etil asetat, dan Residu Konsentrasi 20%)
- G : Gentamisin cakram 10 μg
- D : DMSO 10%

3.9 Analisis Data

Seluruh sampel dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif. Data dari uji antibakteri dengan metode difusi pada 6 konsentrasi perlakuan dianalisis dengan uji *One way ANOVA* untuk melihat pada

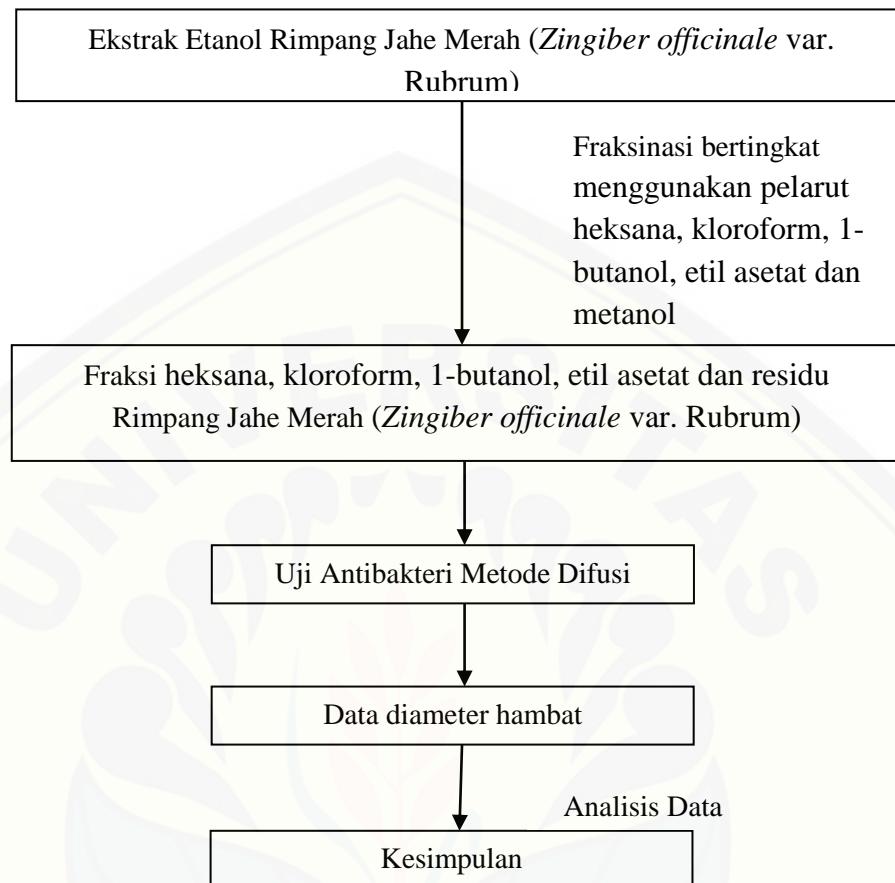
kelompok terdapat perbedaan yang bermakna atau tidak. Kemudian dilanjutkan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang bermakna. Hasil uji *One way ANOVA* dan LSD dikatakan signifikan bila nilai $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) (Sudjana, 2000). Hasil penelitian akan diklasifikasikan berdasarkan klasifikasi respon daya hambat menurut Morales dkk. (2003) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Klasifikasi respon daya hambat pertumbuhan bakteri

Diameter zona hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 21-30 mm	Sangat Kuat
11-20 mm	Kuat
6-10 mm	Sedang
< 6 mm	Lemah

Sumber: Morales dkk., 2003

3.10 Skema Penelitian



Gambar 3.4 Skema alur penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi rimpang jahe merah

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol dan fraksi rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*
2. Aktivitas antibakteri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) terhadap *S. aureus* dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, ekstrak etanol, butanol dan Residu dengan nilai diameter zona hambat berturut-turut sebesar $10,8 \text{ mm} \pm 0,27$, $10,4 \text{ mm} \pm 0,28$, $9,4 \text{ mm} \pm 0,32$, $8,2 \text{ mm} \pm 0,19$, $7,7 \text{ mm} \pm 0,17$, $5,3 \text{ mm} \pm 0,24$ dan menghambat pada konsentrasi uji terkecil 1% dengan diameter zona hambat $8,0 \text{ mm} \pm 0,25$.
3. Aktivitas antibakteri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) terhadap *P. aeruginosa* dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah fraksi n-heksana, ekstrak etanol, kloroform, etil asetat, butanol dan Residu dengan nilai diameter zona hambat berturut-turut sebesar $12,3 \text{ mm} \pm 0,39$, $11,7 \text{ mm} \pm 0,33$, $11,6 \text{ mm} \pm 0,36$, $11,0 \text{ mm} \pm 0,3$, $7,7 \text{ mm} \pm 0,26$, $6,6 \text{ mm} \pm 0,37$ dan menghambat pada konsentrasi terkecil 1% dengan diameter zona hambat $9,2 \text{ mm} \pm 0,17$.
4. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi rimpang jahe merah tidak memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik pada bakteri *P. aeruginosa* dan bakteri *S. aureus*

5.2 Saran

Saran untuk penelitian ini adalah :

1. Perlu adanya penelitian lanjutan terhadap senyawa aktif fraksi n-heksana yang berpotensi terhadap aktivitas antibakteri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum).
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) secara *in vivo*.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiniyemi, A. J., A. O., Ademiluyi, dan G. Oboh. 2013. Aqueous extracts of two varieties of ginger (*Zingiber officinale*) inhibit angiotensin i-converting enzyme, iron(II),and sodium nitroprusside-induced lipid peroxidation in the rat heart in vitro. *Journal of Medicinal Food*, 641-646.
- Ali, B., Blunden, G., Tanira, M., dan Nemmar, A. 2008. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber Officinale Roscoe*): a review of recent research. *Food Chem Toxicol*, 409-420.
- Assay, A. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*. 22(4):659-665.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibnsouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.
- Basri DF dan Fan SH .2005. The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. *Indian J. Pharmacol*. 37:26-29.
- Bermawie, N., dan S, P. 2011. *Botani, Sistematika, dan Keragaman Kultivar Jahe*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Badan Litbang Kementerian Pertanian.
- Bibi, Yamin., S. Nusa, F. M. Chaudhary, dan M. Zia. 2011. Antibacterial activity of some selected medicinal plants of Pakistan. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 11: 52.
- Brooks, G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2014. *Medical Microbiology*. New York: Mc Graw Hill.
- Churbasik, S., Pittler, M., dan Roufogalis, B. 2005. *Zingiberis rhizoma*: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine*, 684-701.
- Dai, J., dan R. J. Mumper. 2010. Plant Phenolic: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecule* 15(1): 7313-7352.
- Dao, C. 2016. *Pseudomonas aeruginosa*. https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Pseudomonas_aeruginosa [Diakses pada Maret 28, 2018].

- Depkes RI. 2000. *Parameter standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawas Obat Tradisional.
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan (Ditjen POM). 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Depkes RI.
- Ellof JN. 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med* 64:711-713.
- Ghasemzadeh, A., H. Z. E. Jaafar, dan A. Rahmat 2010. Synthesis of phenolics and flavonoids in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and their effects on photosynthesis rate. *International Journal of Molecular Sciences* 11(11): 4539–4555.
- Gillepsie, S. dan K. Bamford. 2012. *Microbiology and Infection at a Glance*. Edisi 4. United Kingdom: John Wiley dan Sons, Ltd.
- Guo, J., Wu, H., Du, L., Zhang, W., dan Yang, J. 2014. Comparative Antioxidant Properties of some Gingerols and Shogaols, and the Relationship of their Contents with the Antioxidant Potencies of Fresh and Dries Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J. Agr. Sci. Tech*, 1063-1072.
- Handrianto, P. 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah *Zingiber officinale* var. *Rubrum* Terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. Akademi Farmasi Surabaya: *Journal of Research and Technologies*
- Herlina, R., Muhanarto, L., dan Pribadi. 2002. *Khasiat dan Manfaat Jahe Merah si Rimpang Ajaib*. Jakarta Selatan: Agro Media Pustaka
- Hernani dan E. Hayani. 2001. Identification of chemical components on red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) by GC-MS in Proc. *International Seminar on natural products chemistry and utilization of natural resources UI Jakarta-Unesco*. 2001: 501-505.
- Houghton, P., dan Raman, A. 2012. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. London: Springer Science Business Media.
- Irving, W., D. Ala'Aldeen, dan T. Boswell. 2006. *Medical Microbiology*. New York: Taylor & Francis Group.
- Jawetz, and Melnick. 2007. Mikrobiologi Kedokteran. EGC: Jakarta.

- Jayanudin, Rochmadi, Wiratni, M. Yulvianti, D. R. Barleany, dan W. Ernayati. 2015. Encapsulation red ginger oleoresin (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) with chitosan-alginate as wall material using spray drying. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology* 10(12): 1370–1378.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, dan J. T. Anthony. 2009. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 11. San Fransisco: Mc Graw Hill.
- Kementrian Kesehatan RI. 2011. *Pedoman Interpretasi Data Klinik*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI
- Koda-Kimble, M. A., L. Y. Young, B. K. Alldredge, R. L. Corelli, B. J. Guglielmo, W. A. Kradjan, dan B. R. Williams. 2009. *Applied Therapeutics: The Clinical Use Of Drugs*. Edisi 9. USA : Lippincott Williams & Wilkins.
- Kusmayati dan Agustini, N. W. R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1) : 48-53.
- Kusumawati, N., Anggarani, M. A., Rusijono, Setiarso, P., dan Muslim, S. 2017. Product standarization of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) simplicia through washing time, slice thickness, and raw materials drying process optimization. *International journal on Advanced Science Engineering Information Technology*, 15-22.
- Kuswandi, M. 2011. Strategi Mengatasi Bakteri yang Resisten terhadap Antibiotika. *Pengukuhan Jabatan Guru Besar* (10-12). Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Koswara, S. 2006. *Jahe, Rimpang dengan Sejuta Khasiat*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Langfield RD, Scarano FJ, Heitzman ME, Kondo M, Hammond GB, Neto CC. 2004. Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant Peperomia galoides. *J. Ethnopharmacol.* 94: 279-281.
- Lyczak, J. B., C. L. Cannon, dan G. B. Pier. 2000. Establishment of *pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes and Infection*. 2(9):1051–1060.
- Mardiastuti, H. W., A. Karuniawati, A. Kiranasari, Ikaningsih, dan R. Kadarsih. 2007. *Emerging resistance pathogen*: situasi terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 57(3): 75-79.

- Morales, G.P., Sierra, Mancilla, Parades L.A., Loyola, Gallardo and Bourquez J. 2003. Secondary Metabolites of Four Medicine Plants from Northern Chiles, Antimicrobe Activity, and Biotoxicity Against Artemia salina. *Journal Chile Chemestry*. 48(2):35-41.
- Morgan, M. 2009. Ethanol in herbal medicine. *Medi Herb.* (129):1-4.
- Mulyani, S. 2010. Fakultas Farmasi UGM. Komponen dan Anti-bakteri dari Fraksi Kristal Minyak *Zingiber zerumbet*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(3), 178-184.
- Nursal, W., Sri dan Wilda S. 2006. Bioaktifitas ekstrak jahe (*Zingiber officinale Roxb.*) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biogenesis*, 2 (2): 64-66.
- Oboh, G., A. J. Akinyemi, dan A. O. Ademiluyi. 2012. Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. Rubra) and white ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe 2+ induced lipid peroxidation in rat brain in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64(1-2): 31–36.
- O.I.E. 2012. Laboratory methodologics for bacterial antimicrobial susceptibility testing. *OIE Terrestrial Manual*. 1-11.
- Otsuka, H. 2006. *Purification by Solvent Extraction Using Partition Coefficient*. Dalam Natural Product Isolation. Editor S. D. Sarker, Z. Latief, dan A. Gray Edisi 2: 269-270. New Jersey: Humana Press.
- Pandey, A., S. Tripathi, dan C. A. Pandey. 2014. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*. 115(25):115-119.
- Peng, F., Tao, Q., Wu, X., Dou, H., Spencer, S., Mang, C, dkk. 2012. Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant effect of isolated phenolic compounds from fresh ginger. *Elsevier Fitoterapia*, 568-585.
- Poeloengan, M. 2011. The effect of red ginger (*Zingiber officinale Rubra*) extract on the growth of mastitis caushing bacterial isolates. African journal of Microbiology Research, 382-389.
- Ravindran, P. N., dan K. N. Babu. 2004. *Ginger : The Genus Zingiber*. USA: CRC Press.
- Reynolds, J. E. F. 1996. *Martindale, The Extra Pharmacopeia 31th Edition*. London: The Royal Pharmaceutical Society Press.

- Rialita T., Winiati P. R., Lilis N., Budi N. 2015. Aktivitas Antimikroba Minyak Esensial Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Var. *Rubrum*) Dan Lengkuas Merah (*Alpinia Purpurata* K.Schum) Terhadap Bakteri Patogen Dan Perusak Pangan. *AGRITECH*, Vol. 35.
- Rios, J. L., M. C. Recio, dan a. Vilaar. 1988. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology*. 23(2-3):127-149.
- Safitri, Y. 2016. Pengaruh air rebusan jahe merah (*Zingiber officinale rosc*) terhadap penurunan nyeri pada penderita arthritis rheumatoid di desa empat balai wilayah kerja puskesmas kuok. *Jurnal Ners*, [S.1.], v. 7, n. 1, p. 80-87,.ISSN 2580-2194.
- Saker, L., K. Lee, B. Cannito, A. Gilmore, dan D. Campbell-Lendrum. 2004. *Globalization and infectious disease : A review of the linkages*. Switzerland: TDR.
- Sari, K., Periadnadi dan Nasril Nasir. 2013. Uji Antimikroba Ekstrak Segar Jahe-Jahean (*Zingiberaceae*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*.
- Sarker, S. D., Latif, Z., dan Gras, A. I. 2007. *Natural Product Isolation 2nd Edition*, Totowa, New Jersey: Humana Press.
- Sekar, M., Pei Ting, C., Moh Syafiq, B. A., dan Nalina, K. 2014. Comparative evaluation of Antimicrobial properties of Red and White Ginger. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 108-110.
- Shimoda, H. 2006. *Red Ginger Extract : All Natural Anti-arhritic and Anti-inflammatory Agent for Food and Cosmetics Applications*. Tokyo: Oryza Oil And Fat Chemical Co., LTD.
- Shimoda, H., Shao-Jie Shan, Junji Tanaka, Azusa Seki, Joung-Wook Seo, Naoki Kasajima, Satoru Tamura, Yan Ke, dan Nobutoshi Murakami. 2010. Anti-inflammatory properties of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) extract and suppression of nitric oxide production by its constituents. *Research and Development Division*, Oryza Oil & Fat Chemical Co., Ltd., Ichinomiya, Aichi, Japan.
- Singh, D. K., B. Srivastava, dan A. Sahu. 2014. Spectrophotometric determination of rauwolfa alkaloid: estimation of reserpine in pharmaceutical. *Analytical Science : The International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*. 20(3):571-573.
- Sudjana. 2000. *Metode statistika*. Bandung: Tarsito.

- Supardi dan Sukanto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengelolaan Dan Keamanan Pangan*. Bandung: Alumni.
- Taylor, T. A. dan C. G. Unakal. 2017. *Staphylococcus aureus*. In:StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017 Jun-. Available from : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>. [Diakses pada Maret 4, 2017]
- Todar, K. 2008a. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Disease.
<http://textbookofbacteriology.net> [Diakses pada December 18, 2017].
- WHO. 2015. Indonesia : WHO Statistical Profile. www.who.int/gho/countries/idn.pdf. [Diakses pada tanggal 3 April 2018].
- Wu, W., Y. Jin, F. Bai, dan S. Jin. 2014. *Pseudomonas Aeruginosa*. Elsevier Ltd. *Molecular Medical Microbiology*: Second Edition.

LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 3169 UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Tsabit Barki
Nim : 122210101118
Jur./Fak./PT : F. Farmasi/UNEJ

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

1. *Zingiber officinale* var. *officinale* {Syn. -; Family – Zingiberaceae; Vernacular name – Jahe gajah, Jahe badak, Jahe putih besar (Ind).}
2. *Zingiber officinale* var. *rubrum* Thielade {Syn. *Zingiber officinale* var. *Sunti*; Family – Zingiberaceae; Vernacular name – Jahe merah, Jahe sunti (Ind).}
3. *Zingiber officinale* var. *Amarum* {Syn. -; Family – Zingiberaceae; Vernacular name – Jahe putih kecil, Jahe emprit (Ind).}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 21 Desember 2016

Mengetahui,

Pembantu Dekan I,



Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
NIP 195910091986021001

Ketua Laboratorium



Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 196404171991032001

Determined by Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.

Lampiran B. Rendemen Hasil Fraksinasi



Keterangan : (1) Fraksi heksana; (2) Fraksi kloroform; (3) Fraksi etil asetat;
 (4) Fraksi 1-butanol; (5) Fraksi metanol

Contoh perhitungan rendemen fraksi:

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi} &= \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{7,0814 \text{ g}}{29,0522 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 24,375 \% \end{aligned}$$

Sampel	Berat ekstrak (g)	Berat fraksi (g)	Rendemen (%)
Fraksi heksana	29,0522	7,0814	24,375
Fraksi kloroform	29,0522	6,0333	20,767
Fraksi etil asetat	29,0522	0,7141	2,458
Fraksi 1-butanol	29,0522	5,0735	17,463
Fraksi metanol	29,0522	9,5448	32,854

Lampiran C Pembuatan Larutan Uji untuk Pengujian Aktivitas Antibakteri**a. Pembuatan Larutan DMSO 10%**

Larutan DMSO 10% dibuat dengan memipet sebanyak 1 mL larutan DMSO kemudian diencerkan menggunakan akuades steril sebanyak 9 mL.

b. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol, Fraksi n-butanol, Kloroform, Etil asetat, n-heksana rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 20% b/v

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak etanol konsentrasi 20\%} &= \frac{0,202}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 20,2 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Fraksi n-butanol konsentrasi 20\%} &= \frac{0,201}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 20,1 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Fraksi kloroform konsentrasi 20\%} &= \frac{0,200}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 20,0 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Fraksi n-butanol konsentrasi 20\%} &= \frac{0,200}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 20,0 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Fraksi n-butanol konsentrasi 20\%} &= \frac{0,202}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 20,2 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Fraksi n-butanol konsentrasi 20\%} &= \frac{0,203}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 20,3 \% \end{aligned}$$

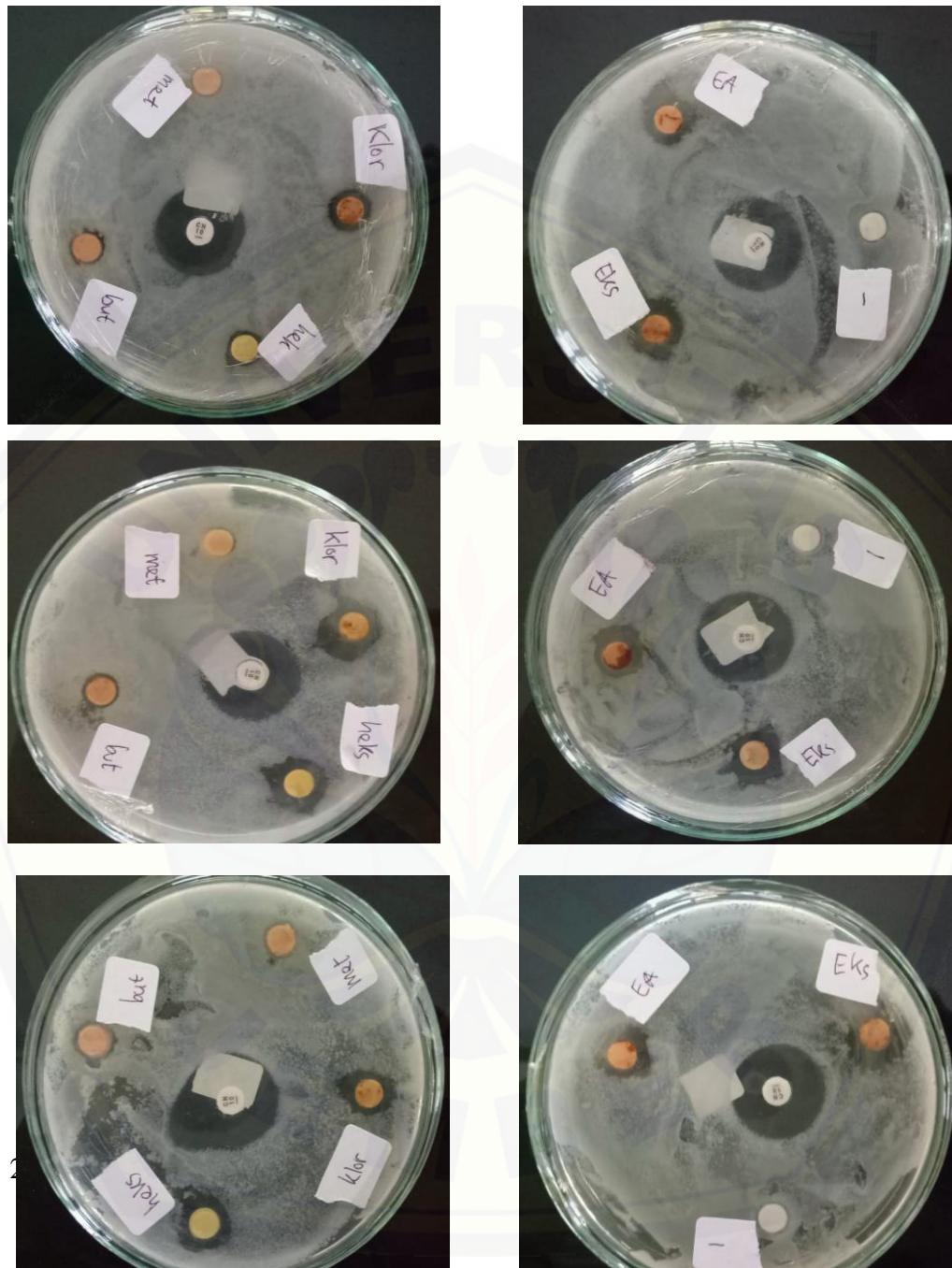
- c. Pembuatan Larutan Uji Fraksi n-heksana rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 1% b/v, 5% b/v, 10% b/v, 15% b/v

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak etanol konsentrasi 1\%} &= \frac{0,012}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 1,2\%\end{aligned}$$

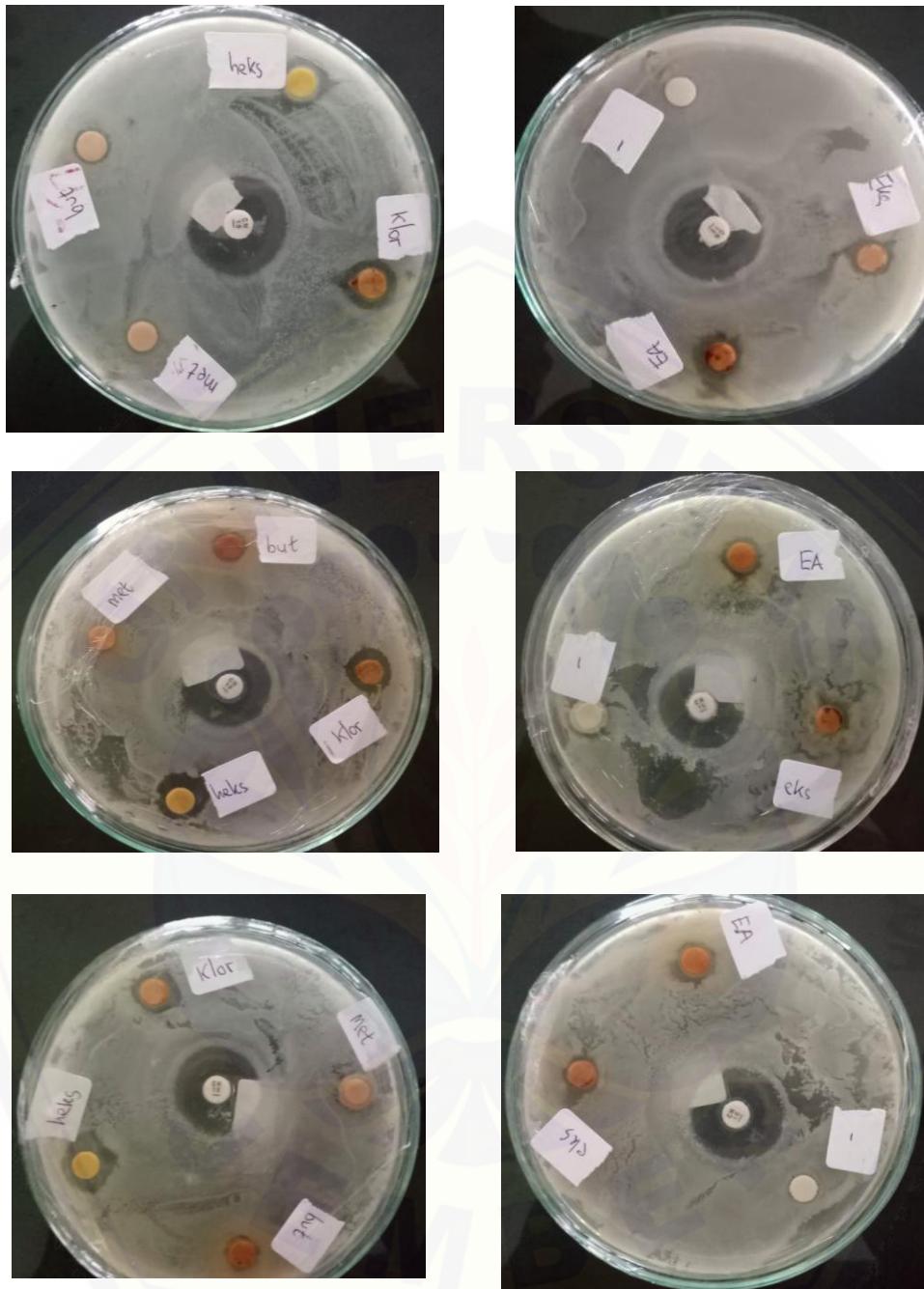
$$\begin{aligned}\text{Fraksi n-butanol konsentrasi 5\%} &= \frac{0,051}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 5,1\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Fraksi kloroform konsentrasi 10\%} &= \frac{0,105}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 10,5\%\end{aligned}$$

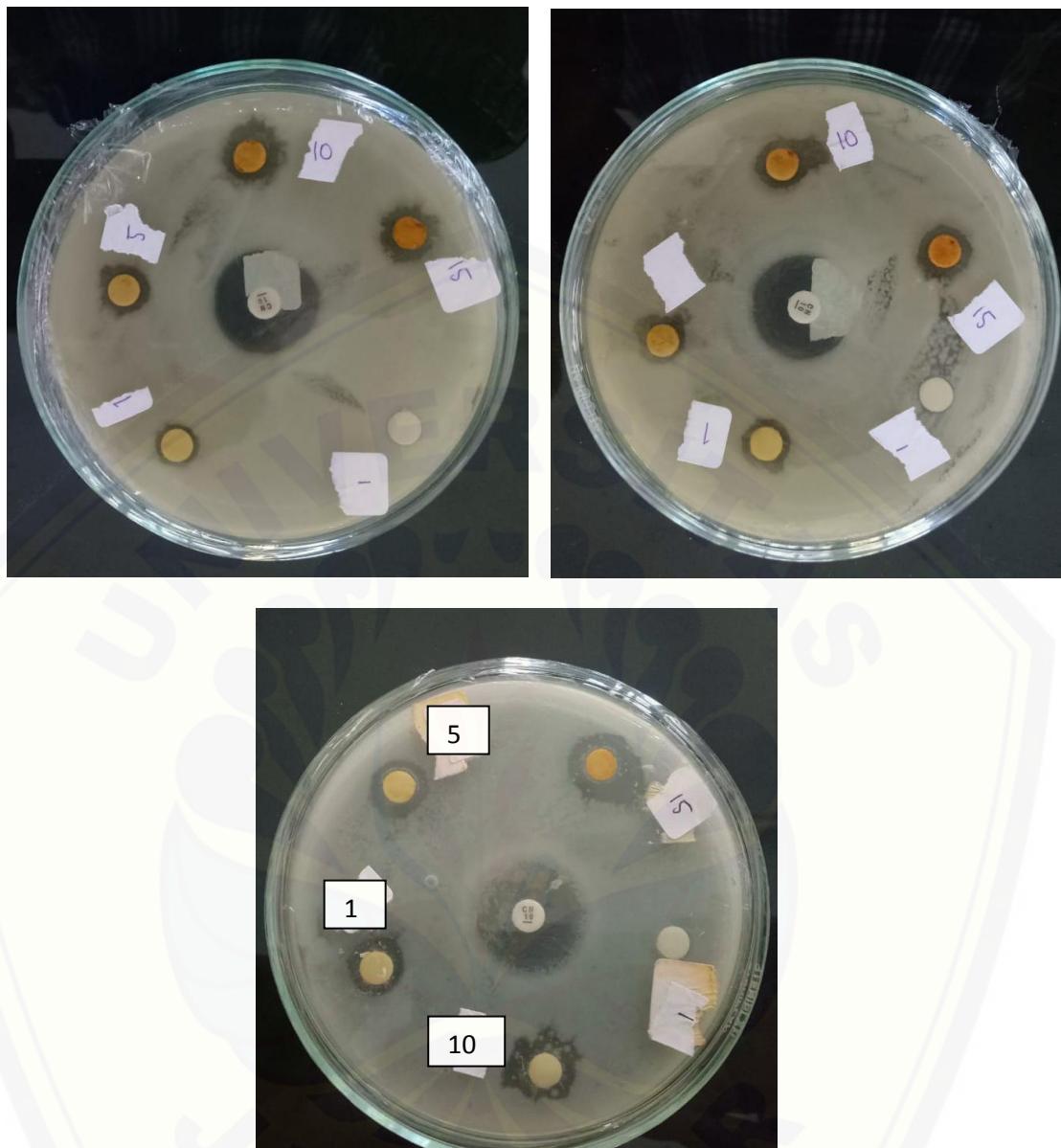
$$\begin{aligned}\text{Fraksi n-butanol konsentrasi 15\%} &= \frac{0,153}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 15,3\%\end{aligned}$$

Lampiran D Hasil Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram

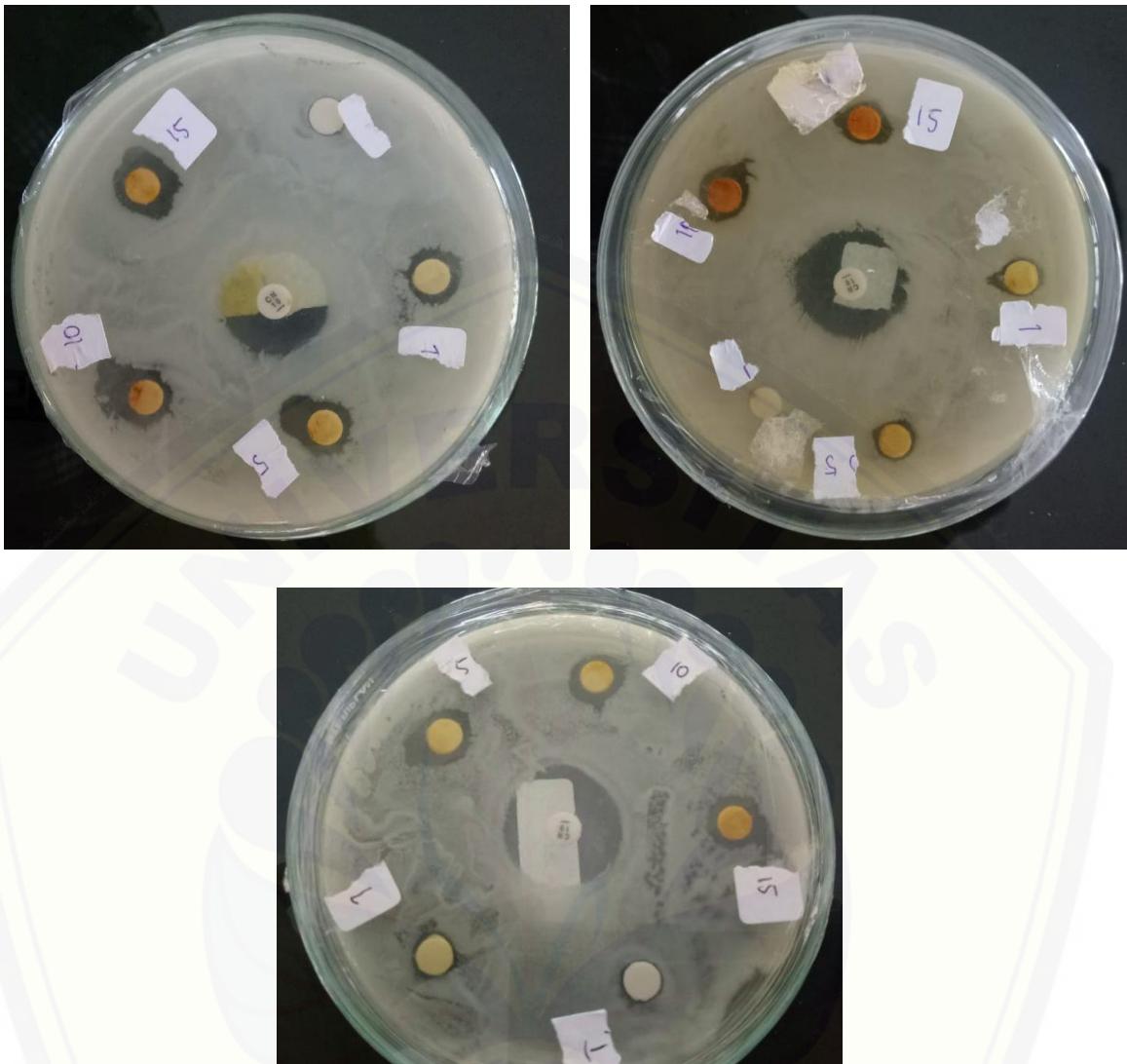
Gambar D.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi n-butanol, Kloroform, Etil asetat, n-heksana dan Residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) konsentrasi 20% terhadap bakteri *P. aeruginosa*



Gambar D. 2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi n-butanol, Kloroform, Etil asetat, n-heksana dan Residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) konsentrasi 20% terhadap bakteri *S. aureus*



Gambar D. 3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksana Konsentrasi 1%,
5%, 10%, 15% rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var.
Rubrum) terhadap bakteri *P. aeruginosa*



Gambar D. 4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksana Konsentrasi 1%,
5%, 10%, 15% rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var.
Rubrum) terhadap bakteri *S. aureus*

- a. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-butanol, Kloroform, Etil asetat, n-heksana dan Residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 20% terhadap bakteri *S. aureus*

Diameter Zona Hambat (mm) terhadap <i>S. aureus</i>									
Replikasi	Data	heksan	Kloroform	butanol	Etil Asetat	Ekstrak	Residu	K+	K-
1	1	10,3	10,1	8,0	9,6	8,2	5,2	18,3	0,0
	2	11,2	10,8	7,7	9,7	8,2	5,1	18,5	0,0
	3	10,8	10,5	7,9	8,9	8,3	5,5	18,1	0,0
2	1	10,4	10,2	7,6	9,2	8,0	5,6	18,4	0,0
	2	10,6	10,5	7,3	9,4	8,9	5,8	18,0	0,0
	3	11,0	10,0	7,4	9,9	8,5	5,9	18,2	0,0
3	1	11,0	10,4	8,1	9,5	8,8	5,5	18,6	0,0
	2	10,9	10,9	7,7	9,4	8,7	6,2	18,5	0,0
	3	11,0	10,6	8,0	9,7	8,8	5,9	18,4	0,0

- b. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-butanol, Kloroform, Etil asetat, n-heksana dan Residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 20% terhadap bakteri *S.aureus*

Diameter Zona Hambat (mm) S.Aureus									
Replikasi	heksan	kloroform	butanol	Etil Asetat	Ekstrak	Residu	K+	K-	
1	10,8	10,5	7,9	9,4	8,2	5,3	18,3	0,0	
2	10,7	10,2	7,4	9,5	8,5	5,8	18,2	0,0	
3	10,9	10,6	7,9	9,5	8,8	5,9	18,5	0,0	
Rata2	10,8	10,4	7,7	9,5	8,5	5,7	18,3	0,0	
SD	0,27	0,28	0,17	0,32	0,19	0,24	0,17	0,0	
CV	2,52	2,73	2,21	3,35	2,22	4,17	0,75	0,0	

c. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-butanol, Kloroform, Etil asetat, n-heksana dan Residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 20% terhadap bakteri *P. aeruginosa*

Diameter Zona Hambat (mm) <i>P. aeruginosa</i>										
Replikasi	Data	heksan	kloroform	butanol	Etil Asetat	Ekstrak	Residu	K+	K-	
1	1	12,6	12,4	7,3	10,4	11,2	6,3	17,0	0,00	
	2	12,7	12,6	8,0	10,6	11,7	7,1	17,8	0,00	
	3	12,0	11,8	7,6	10,3	11,1	6,6	17,2	0,00	
2	1	12,2	11,2	7,4	11,1	11,4	6,1	17,4	0,00	
	2	11,5	10,6	7,3	11,0	11,1	6,5	17,0	0,00	
	3	11,8	10,9	7,6	11,6	11,8	6,6	17,2	0,00	
3	1	12,5	12,1	7,8	11,0	12,1	7,1	17,1	0,00	
	2	13,2	12,4	8,2	11,2	12,7	6,7	17,5	0,00	
	3	12,4	11,7	8,3	11,8	12,5	6,2	17,3	0,00	

d. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-butanol, Kloroform, Etil asetat, n-heksana dan Residu rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 20% terhadap bakteri *P. aeruginosa*

Diameter Zona Hambat (mm) <i>S. Aureus</i>									
Replikasi	Heksan	kloroform	butanol	Etil Asetat	Ekstrak	Residu	K+	K-	
1	12,4	12,3	7,6	10,4	11,3	6,7	17,3	0,0	
2	11,8	10,9	7,4	11,2	11,4	6,4	17,2	0,0	
3	12,7	12,1	8,1	11,3	12,4	6,7	17,5	0,0	
Rata2	12,3	11,6	7,7	11,0	11,7	6,6	17,1	0,0	
SD	0,39	0,36	0,26	0,3	0,33	0,37	0,2	0,0	
CV	3,15	3,01	3,32	2,67	2,8	5,63	0,9	0,0	

- e. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi n-heksana rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15% terhadap bakteri *S. aureus*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm) Fraksi n-heksana terhadap <i>S. aureus</i>					
		1% b/v	5% b/v	10% b/v	15% b/v	K+	K-
1	1	7,4	9,4	9,7	10,4	18,4	0,0
	2	7,5	9,6	10,1	10,6	18,5	0,0
	3	8,3	9,6	9,6	10,5	18,2	0,0
2	1	8,6	9,5	9,8	10,3	18,4	0,0
	2	8,1	9,8	10,2	10,5	18,5	0,0
	3	7,9	9,3	10,0	10,6	18,1	0,0
3	1	8,1	9,1	10,3	10,8	18,0	0,0
	2	8,3	9,0	9,7	10,3	18,2	0,0
	3	8,0	9,4	10,1	10,4	18,6	0,0

- f. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi n-heksana rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15% terhadap bakteri *S. aureus*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm) Fraksi n-heksana <i>S. aureus</i>					
	1% b/v	5% b/v	10% b/v	15% b/v	K+	K-
1	7,7	9,5	9,8	10,7	18,4	0,0
2	8,2	9,5	10,0	10,5	18,3	0,0
3	8,1	9,2	10,0	10,3	18,3	0,0
Rata2	8,0	9,4	9,9	10,5	18,3	0,0
SD	0,25	0,21	0,13	0,17	0,05	0,0
CV	3,15	2,25	1,27	1,59	0,23	0,0

- g. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi n-heksana rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15% terhadap bakteri *P. aeruginosa*

Diameter Zona Hambat (mm) Fraksi n-heksana terhadap <i>P. aeruginosa</i>							
Replikasi	Data	1% b/v	5% b/v	10% b/v	15% b/v	K+	K-
1	1	9,2	10,6	11,4	11,8	17,2	0,0
	2	9,4	10,9	10,9	11,5	17,5	0,0
	3	9,5	10,7	11,2	11,8	17,2	0,0
2	1	9,0	10,4	11,2	11,7	17,6	0,0
	2	9,2	10,6	11,3	11,3	17,4	0,0
	3	8,9	10,1	11,0	11,6	17,0	0,0
3	1	9,3	10,5	11,5	11,8	17,4	0,0
	2	9,4	10,3	11,2	11,5	17,2	0,0
	3	9,1	10,6	11,3	11,9	17,1	0,0

- h. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi n-heksana rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15% terhadap bakteri *P. aeruginosa*

Diameter Zona Hambat (mm) Fraksi n-heksana <i>P.aeruginosa</i>						
Replikasi	1% b/v	5% b/v	10% b/v	15% b/v	K+	K-
1	9,4	10,7	11,2	11,7	17,3	0,0
2	9,0	10,4	11,2	11,5	17,3	0,0
3	9,3	10,5	11,3	11,7	17,2	0,0
Rata2	9,2	10,5	11,2	11,6	17,3	0,0
SD	0,17	0,19	0,10	0,15	0,05	0,0
CV	1,85	1,80	0,86	1,33	0,29	0,0

Lampiran E Analisis Data Statistik

- a. Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil asetat, Fraksi kloroform, Fraksi butanol dan Residu rimpang jahe merah konsentrasi 20% terhadap *S. aureus*

Tests of Normality

sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
S.aure	.175	3	.	1.000	3	1.000
n-heksana	.292	3	.	.923	3	.463
kloroform	.385	3	.	.750	3	.000
butanol	.385	3	.	.750	3	.000
etl asetat	.328	3	.	.871	3	.298
residu	.175	3	.	1.000	3	1.000
ekstrak						

Test of Homogeneity of Variances

s.aureus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.953	5	12	.159

- b. Uji Kruskal Wallis Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil asetat Fraksi kloroform, Fraksi butanol dan Residu rimpang jahe merah konsentrasi 20% terhadap *S. aureus*

Test Statistics^{a,b}

	s. aure
Chi-Square	16.613
Df	5
Asymp. Sig.	.005

- b. Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil asetat, Fraksi kloroform, Fraksi butanol dan Residu rimpang jahe merah konsentrasi 20% terhadap *P. aeruginosa*

Tests of Normality

sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
p.aeru	.253	3	.	.964	3	.637
n-heksana	.337	3	.	.855	3	.253
kloroform	.204	3	.	.993	3	.843
butanol	.349	3	.	.832	3	.194
etl asetat	.385	3	.	.750	3	.000
residu	.356	3	.	.818	3	.157
ekstrak						

Test of Homogeneity of Variances

p.aeru

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.986	5	12	.153

- c. Uji Kruskal Wallis Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil asetat Fraksi kloroform, Fraksi butanol dan Residu rimpang jahe merah konsentrasi 20% terhadap *P.aeruginosa*

Test Statistics^{a,b}

	p.aeru
Chi-Square	14.501
Df	5
Asymp. Sig.	.013

- e. Uji Analisis Data Mann Whitney antara Ekstrak Etanol dengan Fraksi n-heksana, Fraksi Etil asetat, Fraksi kloroform, Fraksi butanol dan Residu rimpang jahe merah konsentrasi 20% terhadap *S. aureus*

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aureus	residu	3	2.00	6.00
	ekstrak etanol	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	s.aureus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aureus	fraksi butanol	3	2.00	6.00
	ekstrak etanol	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	s.aureus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a
--------------------------------	-------------------

- a. Not corrected for ties.
 b. Grouping Variable: sampel

Ranks

sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aureus	fraksi etil asetat	3	5.00	15.00
	ekstrak etanol	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	s.aureus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

- a. Not corrected for ties.
 b. Grouping Variable: sampel

Ranks

sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aureus	fraksi kloroform	3	5.00	15.00
	ekstrak etanol	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	s.aureus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a
--------------------------------	-------------------

- a. Not corrected for ties.
 b. Grouping Variable: sampel

Ranks

sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aureus	fraksi n-heksana	3	5.00
	ekstrak etanol	3	2.00
	Total	6	15.00

Test Statistics^b

	s.aureus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

- a. Not corrected for ties.
 b. Grouping Variable: sampel

- f. Uji Analisis Data Mann Whitney antara Ekstrak Etanol dengan Fraksi Heksana, Fraksi Etil asetat dan Residu rimpang jahe merah pada inang Apel Manalagi terhadap *P. aeruginosa*

Ranks

sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeruginosa	residu	3	2.00

ekstrak etanol	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeruginosa
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeruginosa	3	2.00	6.00
fraksi butanol	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeruginosa
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeruginosa	fraksi etil asetat	3	2.17	6.50
	ekstrak etanol	3	4.83	14.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeruginosa
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	6.500
Z	-1.771
Asymp. Sig. (2-tailed)	.077
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeruginosa	fraksi kloroform	3	3.33	10.00
	ekstrak etanol	3	3.67	11.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeruginosa
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.218
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeruginosa	fraksi n-heksana	3	4.50
	ekstrak etanol	3	2.50
	Total	6	

Test Statistics^b

	p.aeruginosa
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	7.500
Z	-1.328
Asymp. Sig. (2-tailed)	.184
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

g. Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Fraksi n-heksana rimpang jahe merah konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15% terhadap *S. aureus*

Tests of Normality

	sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
s.aure	fraksi n-heksana konsentrasi 1%	.314	3	.	.893	3	.363
	fraksi n-heksana konsentrasi 5%	.385	3	.	.750	3	.000
	fraksi n-heksana konsentrasi 10%	.385	3	.	.750	3	.000
	fraksi n-heksana konsentrasi 15%	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

s.aure

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.895	3	8	.485

h. Uji Kruskal Wallis Diameter Zona Hambat Fraksi n-heksana rimpang jahe merah konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15% terhadap *S. aureus*

Test Statistics^{a,b}

	s.aure
Chi-Square	10.458
df	3
Asymp. Sig.	.015

a. Kruskal Wallis Test

Test Statistics^{a,b}

	s.aure
Chi-Square	10.458
df	3
Asymp. Sig.	.015

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

sampel

- i. Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Fraksi n-heksana rimpang jahe merah konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15% terhadap *P. aeruginosa*

Tests of Normality

	sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
p.aeru	fraksi n-heksana konsentrasi 1%	.292	3	.	.923	3	.463
	fraksi n-heksana konsentrasi 5%	.253	3	.	.964	3	.637
	fraksi n-heksana konsentrasi 10%	.385	3	.	.750	3	.000
	fraksi n-heksana konsentrasi 15%	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

p.aeru

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.874	3	8	.212

- j. Uji Kruskal Wallis Diameter Zona Hambat Fraksi n-heksana rimpang jahe merah konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15% terhadap *P. aeruginosa*

Test Statistics^{a,b}

p.aeru	
Chi-Square	10.458
Df	3
Asymp. Sig.	.015

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
sampel

k. Uji Analisis Data Mann Whitney Fraksi n-heksana rimpang jahe merah konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15% terhadap *S. aureus*

Ranks

Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aure fraksi n-heksana konsentrasi 1%	3	2.00	6.00
fraksi n-heksana konsentrasi 5%	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	s.aure
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aure	fraksi n-heksana konsentrasi 1%	3	2.00	6.00
	fraksi n-heksana konsentrasi 10%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	s.aure
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aure	fraksi n-heksana konsentrasi 1%	3	2.00	6.00
	fraksi n-heksana konsentrasi 15%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	s.aure
--	--------

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aure fraksi n-heksana konsentrasi 5%	3	2.00	6.00
fraksi n-heksana konsentrasi 10%	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	s.aure
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aure	fraksi n-heksana konsentrasi 5%	3	2.00	6.00
	fraksi n-heksana konsentrasi 15%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	s.aure
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
s.aure	fraksi n-heksana konsentrasi 10%	3	2.00	6.00
	fraksi n-heksana konsentrasi 15%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	s.aure
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

- Uji Analisis Data Mann Whitney Fraksi n-heksana rimpang jahe merah konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15% terhadap *P. aeruginosa*

Ranks

Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeru fraksi n-heksana konsentrasi 1%	3	2.00	6.00
fraksi n-heksana konsentrasi 5%	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeru
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeru	fraksi n-heksana konsentrasi 1%	3	2.00	6.00
	fraksi n-heksana konsentrasi 10%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeru
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeru	fraksi n-heksana konsentrasi 1%	3	2.00	6.00
	fraksi n-heksana konsentrasi 15%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeru
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeru fraksi n-heksana konsentrasi 5%	3	2.00	6.00
fraksi n-heksana konsentrasi 10%	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeru
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeru	fraksi n-heksana konsentrasi 5%	3	2.00	6.00
	fraksi n-heksana konsentrasi 15%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeru
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel

Ranks

Sampel		N	Mean Rank	Sum of Ranks
p.aeru	fraksi n-heksana konsentrasi 10%	3	2.00	6.00
	fraksi n-heksana konsentrasi 15%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	p.aeru
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel