

**ANALISIS KOMBINASI KITOSAN DAN EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa* Linn.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA HAMBAT
Escherichia coli SECARA *in Vitro***

SKRIPSI

Oleh:

FIKRI ALHIMSYAH

NIM. 13670013



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**ANALISIS KOMBINASI KITOSAN DAN EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa* Linn.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA HAMBAT
Escherichia coli SECARA *in Vitro***

SKRIPSI

Oleh:

FIKRI ALHIMSYAH

NIM. 13670013

Diajukan Kepada:

Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**ANALISIS KOMBINASI KITOSAN DAN EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa* Linn.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA HAMBAT
Escherichia coli SECARA *in Vitro***

SKRIPSI

Oleh:

Fikri Alhimsyah

NIM. 13670013

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 12 Januari 2018

Pembimbing I

Burhan Ma'arif ZA., M.Farm., Apt
NIP. 19900221 20170101 1 124

Pembimbing II

drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort
NIP. 19850720 200912 1 003



**Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi**

Dr. Roihatul Muti'ah. M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

**ANALISIS KOMBINASI KITOSAN DAN EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa* Linn.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA HAMBAT
Escherichia coli SECARA *in Vitro***

SKRIPSI

Oleh :

Fikri Alhimsyah

NIM. 13670013

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sarjana (S.Farm)

Tanggal : 12 Januari 2018

Penguji Utama : Dewi Sinta Megawati, M. Sc
NIP. 19840116 20170101 2 125

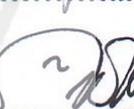
Ketua Penguji : drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort
NIP. 19850720 200912 1 003

Sekretaris Penguji : Burhan Ma'arif ZA., M.Farm., Apt
NIP. 19900221 20170101 1 124

Anggota Penguji : Ach. Nashichuddin, M. A
NIP. 19730705 200003 1 002

.....


.....


.....


.....




**Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi**

Dr. Rohatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

EMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'aalamiin, Puji dan Syukur senantiasa dipanjatkan ke hadirat Allah SWT beserta salawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW. Dengan rasa syukur yang mendalam, penulis persembahkan karya tulisan ini kepada:

Kedua orang tua, Bapak Ichsan Ali dan Ibu Mukarromah yang selalu mendoakan, membimbing, dan mendukung sehingga penulis dapat menyelesaikan studi. Kakak-kakak, Zuyyina Fihayati dan Alvin Imanullah Ariga yang selalu mendoakan dan memberi semangat untuk menyelesaikan studi. Terimakasih sudah menjadi pendukung utama, penyemangat diri, dan penyenang hati.

Bapak Burhan Ma'arif Z. A, M. Farm, Apt, bapak drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort, dan ibu Dewi Sinta Megawati, M. Sc yang telah membimbing dan mendukung sehingga dapat terselesaikan tugas akhir ini. Kepada bapak Ach. Nashihuddin, M. A yang telah membimbing dari segi keagamaan. Terimakasih sebanyak-banyaknya telah membimbing dan mendukung hingga terselesaikan tugas akhir ini.

Kepada orang-orang disekitar penulis yang telah mendoakan dan mendukung serta memberi semangat. Tak cukup kata-kata untuk menggambarkan rasa terima kasih kepada semua orang yang telah mendoakan dan memberi dukungan kepada penulis, harapan penulis hanyalah semoga semua yang telah mendukung diberikan kesehatan dan rezeki oleh Allah SWT.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fikri Alhimsyah

NIM : 13670013

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : “Analisis Kombinasi Kitosan dan Ekstrak Kunyit
(*Curcuma longa* Linn.) Terhadap Peningkatan Daya
Hambat *Escherichia coli* secara *in Vitro*”

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar rujukan. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 22 Januari 2018

Yang membuat pernyataan,



Fikri Alhimsyah
13670013

MOTTO

**“Keberhasilan tidak diukur dengan seberapa banyak buku yang dihafalkan,
namun seberapa manfaat ilmu yang ditularkan”**

*“Success is not measured by how many books are memorized, but how useful
the science is transmitted”*

“لا يقاس النجاح بعدد الكتب التي يتم حفظها، ولكن مدى فائدة نقل العلم”



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikumWarahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam bidang farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan serta arahan dari berbagai pihak. Untuk itu ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan terutama kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Dr. Bambang Pardjianto, Sp. B, Sp. BP- RE(K), selaku dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt, selaku ketua Jurusan Farmasi,Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan,Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Burhan Ma'arif Z. A, M.Farm, Apt selaku dosen pembimbing utama yang banyak memberikan arahan, nasihat, motivasi, dan berbagai pengalaman yang berharga kepada penulis.

5. drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort selaku konsultan yang selalu meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan solusi kepada penulis.
6. Ach. Nashihuddin, M. A selaku pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan dan banyak nasehat agama kepada penulis.
7. Segenap sivitas akademika Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang terutama seluruh dosen, terima kasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
8. Ayah dan ibu tercinta yang telah mencurahkan cinta kasih, doa, bimbingan, dan motivasi hingga selesainya skripsi ini.
9. Kakak tersayang yang telah memberikan semangat kepada penulis.
10. Seluruh teman-teman di Jurusan Farmasi angkatan 2013 “GOLFY” yang berjuang bersama-sama untuk meraih mimpi dan terima kasih untuk setiap kenangan indah yang dirajut bersama dalam menggapai impian.
11. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik moril maupun materil.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Wassalamu’alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Malang, 22 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR LAMBANG, SIMBOL DAN SINGKATAN	xvii
ABSTRAK	xix
ABSTRACT.....	xx
المخلص	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
1.5 Batasan Masalah	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Luasnya Rezeki Allah SWT	6
2.2 Kitosan.....	8

2.2.1	Proses Pembentukan Kitosan.....	8
2.2.2	Sifat-sifat Kitosan	9
2.2.3	Aktivitas Antibakteri Kitosan.....	9
2.3	Kunyit	11
2.3.1	Klasifikasi Kunyit.....	11
2.3.2	Nomenklatur Kunyit.....	11
2.3.3	Habitat dan Morfologi Kunyit.....	12
2.3.4	Khasiat Kunyit.....	13
2.3.5	Kandungan Kimia Kunyit.....	15
2.3.6	Aktivitas Antibakteri Kunyit.....	15
2.4	<i>Escherichia coli</i>	17
2.4.1	Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	17
2.4.2	Morfologi <i>Escherichia coli</i>	18
2.4.3	Fisiologi <i>Escherichia coli</i>	19
2.4.4	Struktur Antigen <i>Escherichia coli</i>	20
2.4.5	Patogenitas <i>Escherichia coli</i>	20
2.5	Penyarian Senyawa Aktif	22
2.5.1	Cara Dingin	22
2.5.2	Cara Panas	24
2.5.3	Pelarut.....	25
2.6	Uji Aktivitas Antibakteri.....	26
2.6.1	Metode Dilusi.....	26
2.6.2	Metode Difusi.....	27
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....		29
3.1	Skema Kerangka Konseptual.....	29
3.2	Uraian Kerangka Konseptual.....	29
3.3	Hipotesis Penelitian	30
BAB IV METODE PENELITIAN		31
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	31
4.1.1	Jenis Penelitian	31

4.1.2 Rancangan Penelitian	31
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
4.3 Populasi dan Sampel.....	32
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	33
4.4.1 Variabel Penelitian	33
4.4.2 Definisi Operasional	34
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	34
4.5.1 Alat	34
4.5.2 Bahan	36
4.6 Prosedur Pengumpulan Data	37
4.6.1 Determinasi Tanaman.....	37
4.6.2 Uji Kadar Air	37
4.6.3 Ekstraksi Kunyit	37
4.6.4 Identifikasi KLT Ekstrak Kunyit.....	38
4.6.5 Uji Mikrobiologi.....	39
4.7 Analisis Data.....	41
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	42
5.1 Pemanfaatan Kitosan dan Kunyit	42
5.2 Determinasi Tanaman.....	43
5.3 Uji Kadar Air	44
5.4 Ekstraksi Kunyit	46
5.5 Identifikasi KLT Ekstrak Kunyit.....	47
5.6 Uji Mikrobiologi.....	49
5.7 Analisa Data	57
5.7.1 Uji Normalitas	57
5.7.2 Uji Homogenitas.....	58
5.7.3 Uji <i>Independent t-test</i>	58

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
6.1 Kesimpulan.....	60
6.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN.....	68



DAFTAR TABEL

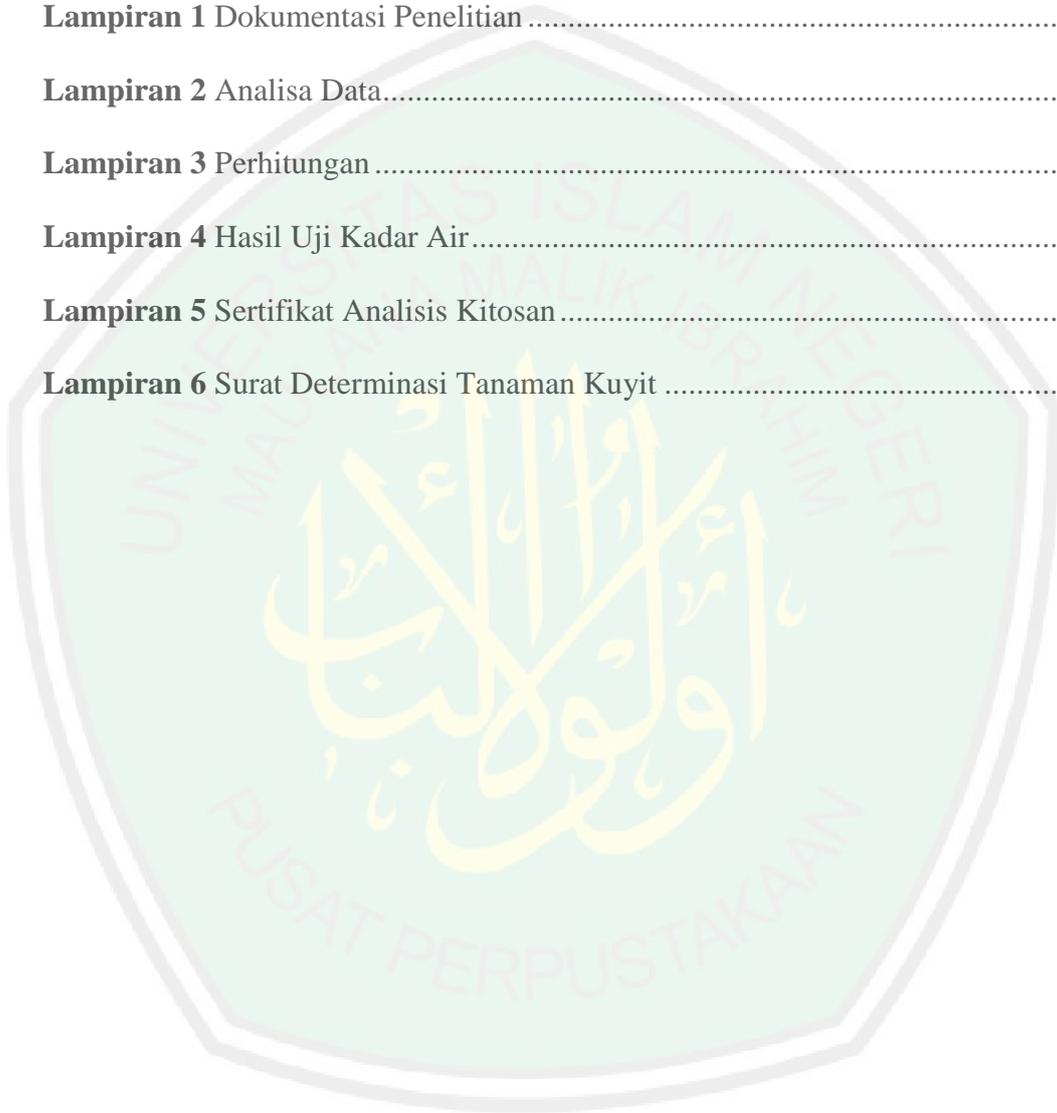
Tabel 4.1 Jumlah Sampel Perlakuan Penelitian	32
Tabel 4.2 Pembuatan Konsentrasi	40
Tabel 5.1 Hasil Analisis Kadar Air Simplisia Serbuk Kunyit.....	45
Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri <i>E. coli</i>	55
Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas.....	57
Tabel 5.4 Hasil Uji Homogenitas	58
Tabel 5.5 Hasil Uji <i>Independent t-test</i>	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Proses Pembentukan Kitosan.....	9
Gambar 2.2 Rimpang Kunyit	13
Gambar 2.3 Struktur Kurkumin.....	15
Gambar 2.4 Struktur <i>E. Coli</i>	19
Gambar 3.1 Skema Kerangka Konseptual.....	29
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.....	31
Gambar 5.1 Analisis Kadar Air Simplisia Serbuk Kunyit	45
Gambar 5.2 Ekstrak Kunyit Berwarna Kuning Kecoklatan	47
Gambar 5.3 Identifikasi Fitokimia Ekstrak Kunyit Uji Senyawa Fenolik Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	49
Gambar 5.4 Hasil pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri <i>E. coli</i> oleh kitosan 0% :ekstrak kunyit 100%	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian	68
Lampiran 2 Analisa Data.....	75
Lampiran 3 Perhitungan	76
Lampiran 4 Hasil Uji Kadar Air.....	77
Lampiran 5 Sertifikat Analisis Kitosan.....	79
Lampiran 6 Surat Determinasi Tanaman Kuyit	80



DAFTAR LAMBANG, SIMBOL DAN SINGKATAN

μg	: <i>microgram</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
ASI	: Air Susu Ibu
ATCC	: <i>American Type Culture Collection</i>
b/v	: berat per volume
BHI	: <i>Brain Heart Infusion</i>
C	: <i>Celcius</i>
<i>C. longa</i>	: <i>Curcuma longa</i>
CFAs	: <i>Colonization Factor Antigens</i>
CFU	: <i>Colony Forming Units</i>
Cl	: Klor
cm	: <i>centimeter</i>
CV	: <i>Commanditaire Vennootschap</i>
DD	: Derajat Deasetilasi
Ditjen POM	: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan
dkk	: dan kawan-kawan
DMSO	: <i>Dimethylsulfoxide</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EHEC	: <i>Enterohaemorrhagic Escherichia coli</i>
EIEC	: <i>Enteroinvasive Escherichia coli</i>
EPEC	: <i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>
<i>et al</i>	: <i>et alii</i>
ETEC	: <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>
E-Test	: <i>Epsilometer Test</i>
g	: <i>gram</i>
H	: Hidrogen
HUS	: <i>Hemolytic Uremic Syndrome</i>

KBM	: Kadar Bunuh Minimal
KHM	: Kadar Hambat Minimal
L	: <i>Liter</i>
Linn	: Linnaeus
LT	: <i>heat-labile enterotoxin</i>
mg	: <i>miligram</i>
MHA	: <i>Mueller-Hinton Agar</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
mL	: <i>mililiter</i>
mm	: <i>milimeter</i>
n	: Jumlah pengulangan
Na	: Natrium
NaCl	: Natrium Klorida
NaOH	: Natrium Hidroksida
p	: Jumlah perlakuan
pH	: potensial Hidrogen
QS	: Qur'an Surat
Rf	: Retention factor
Rumph	: Rumphius
<i>sp</i>	: <i>species</i>
ST	: <i>heat-stable enterotoxin</i>
SWT	: <i>Subhanahu Wa Ta'ala</i>
UPT	: Unit Pelaksana Teknis
USDA	: <i>United States Departement of Agriculture</i>
VT	: <i>Verotoxin</i>
VTEC	: <i>Verotoxigenic Escherichia coli</i>

ABSTRAK

Alhimsyah, Fikri. 2018. **Analisis Kombinasi Kitosan dan Ekstrak Kunyit (*Curcuma Longa Linn.*) Terhadap Peningkatan Daya Hambat *Escherichia coli* Secara *in Vitro***. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing: (1) Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm., Apt.

(2) drg Arief Suryadinata, Sp., Ort

Umumnya makan adalah kebutuhan manusia yang sangat mendasar. Tidak hanya memberikan energi, namun makanan yang kita makan menentukan bentuk pertumbuhan kita dalam hidup. Makanan yang tidak sehat dapat disebabkan dari berbagai hal, salah satunya yaitu pencemaran makanan. Salah satu bakteri yang sering dijadikan indikator terjadinya pencemaran makanan adalah *Escherichia coli*. Seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini masyarakat lebih memilih “*back to nature*” yaitu memanfaatkan bahan dari alam dibandingkan dengan bahan kimia. Bahan alam memiliki berbagai manfaat salah satunya sebagai antibakteri, dari sekian banyak bahan alam yang memiliki manfaat sebagai antibakteri diantaranya yaitu kitosan dan kunyit. Kitosan adalah suatu polisakarida yang didapatkan dari hasil deasetilasi kitin, yang umumnya berasal dari limbah kulit hewan Crustacea. Kunyit (*Curcuma longa Linn.*) merupakan salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat terutama bagian rimpangnya. Interaksi kombinasi antimikroba dapat berupa antagonis, aditif atau sinergis.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil kombinasi serta konsentrasi kombinasi terbaik antara kitosan dan ekstrak kunyit terhadap daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini merupakan studi eksperimental. Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Jumlah sampel penelitian terdiri dari 7 perlakuan dengan berbagai konsentrasi yaitu 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, dan 100%:0% b/v. kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri

Hasil dari penelitian menunjukkan kombinasi antara kitosan dan ekstrak kunyit tidak dapat memberikan daya hambat terhadap *E. coli* secara *in Vitro*. Kombinasi antara kitosan dan ekstrak kunyit tidak dapat memberikan daya hambat terhadap *E. coli* secara *in Vitro* dimungkinkan karena jenis kitosan yang digunakan dan atau rendahnya konsentrasi ekstrak kunyit. Konsentrasi kombinasi kitosan 0%: ekstrak kunyit 100% merupakan konsentrasi yang dapat memberikan hasil terhadap daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.

Kata Kunci: Kitosan, Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa Linn.*), Aktivitas Antibakteri, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Alhimsyah, Fikri. 2018. **The Analysis of Combination Chitosan and Turmeric Extract (*Curcuma longa* Linn.) to Increase Inhibitory Power of *Escherichia coli* with In Vitro**. Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang.

Advisor: (1) Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm., Apt.

(2) drg. Arief Suryadinata, Sp.,Ort

Eating is a very basic human need. Eating does not only provide energy, but the food we eat determines the shape of our growth in life. Unhealthy food can be caused by various things, one of which is food contamination. *Escherichia coli* is one of the bacteria that often as an indicator of food contamination. The development of science and technology make the people prefer to choose "back to nature" that meaning is utilizes materials from nature compared with chemicals. Natural ingredients have various benefits one of them as antibacterial, of the many natural ingredients that have benefits as antibacterials such as chitosan and turmeric. Chitosan is a polysaccharide obtained from the deacetylation of chitin, in generally that's from crustacean animal skin wastes. The turmeric (*Curcuma longa* Linn.) is one of the medicinal plants which often uses in the society, especially on the rhizom's. The interaction of antimicrobial combinations such as antagonists, additives or synergists.

The purpose of this research is to know the combination result and the best combination concentration between chitosan and turmeric extract on the inhibitory power of *E. coli* with *in Vitro*.

The type of research is an experimental study. This research used the sumuran diffusion method. The number research samples consisted of 7 treatments with various concentrations that 0%: 100%, 25%: 75%, 50%: 50%, 75%: 25%, and 100%: 0% b/ v. Then have be doing the activity test of antibacterial.

The results of research showed that the combination of chitosan and turmeric extract did not provide inhibitory power to *E. coli* with *in Vitro*. The combination of chitosan and turmeric extracts can't inhibitory power to *E. coli* with *in Vitro* because of the type of chitosan used and or the low concentration of turmeric extract. Concentration of chitosan combination 0%: 100% turmeric extract is a concentration that can give results to the inhibitory power to *Escherichia coli* with *in Vitro*.

Keywords: Chitosan, Turmeric Extract (*Curcuma longa* Linn.), Antibacterial Activity, *Escherichia coli*.

ملخص البحث

الحيمشة، فكري. 2018. تحليل مزيج من الكيتوسن ومستخلص الكركم (كركم لونغا لين) على قوة مشبط زيادة الإشريكية القولونية (الإشريكية القولونية) في المختبر. البحث العلمي. قسم الصيدلية. كلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرف الأول: برهان، معرف ز.أ. الماجستير، المشرف الثاني: عريف سورياديناتا الماجستير.

الأكل على عموما هو حاجة الإنسان الأساسية جدا. ليس فقط أنها لا توفر الطاقة، ولكن الطعام الذي نأكل يحدد شكل نمونا في الحياة. الغذاء غير الصحي يمكن أن يكون ناجما عن أشياء مختلفة، واحدة منها تلوث الأغذية. واحدة من البكتيريا التي غالبا ما تستخدم كمؤشر على تلوث الأغذية هو الإشريكية القولونية. جنبا إلى جنب مع تطور العلوم والتكنولوجيا اليوم المجتمع يفضلون "العودة إلى الطبيعة" هي التي تستخدم مواد من الطبيعة مقارنة مع المواد الكيميائية. المكونات الطبيعية لها فوائد مختلفة واحدة منها كما مضاد للجراثيم، من العديد من المكونات الطبيعية التي لها فوائد مثل مضادات البكتيريا مثل الكيتوسن والكركم. الكيتوسن هو السكريد التي تم الحصول عليها من ديسيتيلاتيون من الكيتين، والتي هي مشتقة عموما من القشريات نفايات الجلد الحيوانية. الكركم (كركم لونغا لين) هي واحدة من النباتات الطبية التي غالبا ما تستخدم من قبل المجتمع، وخاصة ريمبانغنيا. التفاعل بين تركيبات مضادات الميكروبات يمكن أن يكون إما الخصوم، إضافات أو التآزر.

والهدف من هذا البحث هو معرفة نتيجة الجمع وأفضل تركيبة مزيج بين الكيتوسن ومستخلص الكركم على القدرة المثبطة للإشريكية القولونية في المختبر.

ونوع البحث المستخدم في هذه الدراسة هو دراسة تجريبية. في هذا البحث الطريقة المستخدمة هي طريقة انتشار الآبار. يتكون عدد العينات البحثية من 7 معاملات بتركيزات مختلفة: 0% : 100%، 25% : 75%، 50% : 50%، 75% : 25%، و 100% : 0% ت / ت. ثم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا.

وأظهرت نتائج البحث أن الجمع بين الكيتوسان ومستخلص الكركم لم يوفر قوة مثبتة ل الإشريكية القولونية (الإشريكية القولونية) في المختبر. مزيج من الكيتوسان و مستخلص الكركم لا يمكن أن توفر قوة مثبتة ل القولونية (الإشريكية القولونية) في المختبر هو ممكن بسبب نوع الشيتوزان المستخدمة و أو تركيز منخفض من الكركم استخراج. تركيز 0% تركيبة الكيتوسان: 100% استخراج الكركم هو التركيز الذي يمكن أن تعطي النتائج إلى قوة مثبتة الإشريكية القولونية في المختبر.

الكلمات الرئيسية: الكيتوسان، استخراج الكركم (كركم لونغا لين.)، النشاط المضاد للبكتيريا، الإشريكية القولونية.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Umumnya makan adalah kebutuhan manusia yang sangat mendasar. Tidak hanya memberikan energi, namun makanan yang kita makan menentukan bentuk pertumbuhan kita dalam hidup. Melalui pola makan yang sehat, kondisi fisik tubuh akan lebih terjamin sehingga tubuh akan dapat melakukan aktifitasnya dengan baik pula (Sulistyoningsih, 2011). Kita akan lebih bersemangat untuk bekerja, berpikir, dan akan lebih produktif dengan tubuh yang sehat. Pola hidup yang sehat terjadi jika individu mengkonsumsi makanan yang sehat. Sebaliknya pola hidup yang tidak sehat disebabkan karena individu yang selalu mengkonsumsi makanan yang tidak sehat. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT, sebagaimana firman-Nya :

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا كُلُوا مِن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَاشْكُرُوا لِلَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ

“Hai orang-orang yang beriman, makanlah di antara rezeki yang baik-baik yang Kami berikan kepadamu dan bersyukurlah kepada Allah, jika benar-benar hanya kepada-Nya kamu menyembah” (QS. Al-Baqarah : 172).

Makanan yang tidak sehat dapat disebabkan dari berbagai hal, salah satunya yaitu pencemaran makanan. Salah satu bakteri yang sering dijadikan indikator terjadinya pencemaran makanan adalah *Escherichia coli*. *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki dinding sel dan bakteri golongan ini bersifat anaerob fakultatif (Jawetz & Adelberg's., 2001). *E. coli* terdapat pada saluran usus manusia sebagai flora normal. Kebanyakan jenis dari bakteri ini

sebenarnya adalah bakteri yang tidak berbahaya di dalam saluran pencernaan dan baru menjadi patogen apabila berada di dalam jaringan tubuh diluar saluran pencernaan. Meski demikian, sebagian di antaranya bisa menyebabkan keracunan makanan dan infeksi yang cukup serius. Bakteri ini banyak ditemukan dari tinja penderita diare (Ferdiaz, 1993). Oleh karena itu, diperlukan suatu bahan untuk mengatasi atau mengobati infeksi akibat pencemaran makanan yang disebabkan oleh bakteri *E. coli*.

Seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini masyarakat lebih memilih “*back to nature*” yaitu memanfaatkan bahan dari alam dibandingkan dengan bahan kimia. Pemanfaatan bahan alam dipilih karena bahan tersebut tidak memiliki efek samping pada kesehatan, tidak seperti halnya dengan bahan atau zat kimia. Selain tidak memiliki efek samping, bahan alam jika dilihat dari sudut ekonomi pemanfaatannya jauh lebih terjangkau dibandingkan dengan bahan kimia (Aswarita, 2013). Bahan alam memiliki berbagai manfaat salah satunya sebagai antibakteri, dari sekian banyak bahan alam yang memiliki manfaat sebagai antibakteri diantaranya yaitu kitosan dan kunyit.

Kitosan adalah suatu polisakarida yang didapatkan dari hasil deasetilasi kitin, yang umumnya berasal dari limbah kulit hewan Crustacea. Kitosan telah digunakan diberbagai bidang industri, misalnya industri makanan, farmasi, kosmetik, dan pertanian. Kitosan juga sering digunakan sebagai antibakteri karena rantai kitosan memiliki gugus amino dan gugus hidroksil untuk bereaksi (Juang *et al.*, 2002).

Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat terutama bagian rimpangnya. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hidayati dkk., (2002) secara *in Vitro*, membuktikan bahwa senyawa aktif dalam rimpang kunyit mampu menghambat pertumbuhan jamur, virus, dan bakteri baik gram positif maupun gram negatif, seperti *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*, karena kunyit mengandung berbagai senyawa diantaranya adalah kurkumin dan minyak atsiri (Said, 2001).

Terapi kombinasi sering digunakan ketika berhadapan dengan infeksi yang disebabkan lebih dari satu mikroorganisme baik aerobik maupun anaerobik. Interaksi kombinasi antimikroba dapat berupa antagonis, aditif atau sinergis (Ayoediji *et al.*, 2011). Interaksi kombinasi antar bahan alam sering juga dilaporkan. Menurut Miksusanti & Marfinda (2011) campuran ekstrak kulit manggis dan kayu secang memiliki aktivitas antibakteri lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Selain itu interaksi kombinasi dari daun *Cryptolepis sanguinolenta* dan *Crateva adansonii* menunjukkan aktivitas bakteriosida dan fungisida sehingga dapat dipertimbangkan dalam pengobatan (Ayoediji *et al.*, 2011).

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai interaksi kitosan dan ekstrak kunyit dengan konsentrasi 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, dan 100%:0% b/v terhadap peningkatan daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*. Hal ini disebabkan karena kedua bahan alam tersebut memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka di dapatkan rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah hasil kombinasi antara kitosan dan ekstrak kunyit dapat memberikan peningkatan daya hambat terhadap *E. coli* secara *in Vitro*?
2. Berapakah konsentrasi kombinasi terbaik dari persentase 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, dan 100%:0% b/v antara kitosan dan ekstrak kunyit terhadap peningkatan daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui hasil kombinasi antara kitosan dan ekstrak kunyit terhadap peningkatan daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi kombinasi terbaik antara kitosan dan ekstrak kunyit terhadap peningkatan daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini terbagi menjadi dua, yaitu manfaat secara teoritis dan manfaat secara praktis.

1.4.1 Manfaat Teoritis

Secara teoritis, hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi atau masukan bagi perkembangan ilmu farmasi dan menambah kajian ilmu

farmasi khususnya bidang bahan alam mengenai kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit terhadap daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Secara praktis, manfaat penelitian ini terbagi menjadi dua yaitu manfaat bagi mahasiswa dan manfaat bagi masyarakat.

a. Manfaat bagi mahasiswa

Hasil penelitian ini dapat dijadikan bekal dalam memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit terhadap daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.

b. Manfaat bagi masyarakat

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat mengenai kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit terhadap daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.

1.5 Batasan Masalah

1. Kitosan yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari CV. Amani Malang.
2. Ekstrak kunyit yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari Balai Materia Medica Batu.
3. Bahan alam yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit dengan konsentrasi 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, dan 100%:0% b/v.
4. Penelitian ini hanya dibatasi pada uji aktivitas antibakteri meliputi pengukuran diameter zona hambat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luasnya Rezeki Allah SWT

Tidak ada makhluk di dunia ini yang diciptakan tanpa adanya manfaat untuk umat manusia meskipun makhluk tersebut bukanlah makhluk yang dapat memberikan manfaat. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT, sebagaimana firman-Nya :

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ

“Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-sekali bukan pemberi rezeki kepadanya” (QS. Al-Hijr : 20).

Menurut tafsir Ibnu Katsir Allah SWT menyebutkan bahwa Dia telah menciptakan berbagai macam sarana dan penghidupan di muka bumi. *Al-ma'aayisy* adalah bentuk jamak dari *ma'iisyah* (penghidupan). Mujahid mengatakan : “Yaitu binatang yang melata dan ternak.” Sedangkan Ibnu Jarir mengatakan : “Mereka adalah para budak laki-laki dan perempuan, binatang melata dan binatang ternak.” Allah bermaksud memberi anugerah kepada manusia dengan apa yang dapat memudahkan berbagai macam mata pencaharian dan beraneka ragam sarana kehidupan, dan dengan menundukkan binatang untuk dapat dikendarai dan ternak yang dapat mereka makan, serta hamba sahaya yang dapat melayani mereka, rezeki mereka adalah menjadi tanggungan Sang Pencipta, bukan atas tanggungan mereka. Jadi, mereka mendapatkan manfaat, sedang rezeki adalah menjadi tanggungan Allah SWT (Katsir, 2004).

Tafsir Jalalain menjelaskan bahwa “Dan Kami telah menjadikan untuk kalian di muka bumi keperluan-keperluan hidup” berupa buah-buahan dan biji-bijian (dan) Kami jadikan pula untuk kalian “makhluk-makhluk yang kalian sekali-kali bukan pemberi rezeki kepadanya” yaitu berupa hamba-hamba sahaya, binatang-binatang dan berbagai macam jenis ternak; hanya Allah lah yang memberi rezeki kepada mereka (Al-Mahalli, 2007).

Tafsir Al-Mishbah menerangkan bahwa Allah SWT menjadikan bumi ini berbagai kebutuhan hidup yang baik bagi kalian. Ada bebatuan untuk membangun tempat tinggal, hewan-hewan yang daging, kulit dan bulunya dapat dimanfaatkan, barang-barang tambang yang terdapat di dalam perut bumi, dan sebagainya. Di samping kebutuhan-kebutuhan hidup itu, di bumi ini juga Dia jadikan penghidupan bagi keluarga dan pengikut yang berada di bawah tanggung jawab kalian. Hanya Allah lah yang memberi rezeki kepada mereka, juga kepada kalian (Shihab, 2003).

Tafsir Muyassar menyebutkan bahwa dalam QS. Al-Hijr ayat 20 Allah SWT menjadikan di bumi sumber rezeki dan kehidupan bagi manusia dan binatang, dari biji-bijian, buah-buahan, sayur-sayuran, dan berbagai macam mineral tambang. Dialah yang memberi rezeki dan menjamin makanan setiap makhluk (Aid, 2007).

Dari beberapa tafsir QS. Al-Hijr ayat 20 menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan bumi dan seisinya untuk kebutuhan hidup manusia. Selain itu, Dia juga menciptakan makhluk-makhluk lainnya yang hidup diantara kita yang semuanya telah dijamin rezekinya oleh Allah SWT.

2.2 Kitosan

Kitosan pertama kali ditemukan pada 1811 oleh Henry Braconnot, seorang ahli kimia dan farmasi dari Prancis. Dia melihat bahwa substansi tertentu (Kitin) yang ditemukan pada jamur tidak dapat larut dalam sulfur (Muzzarelli, 1977).

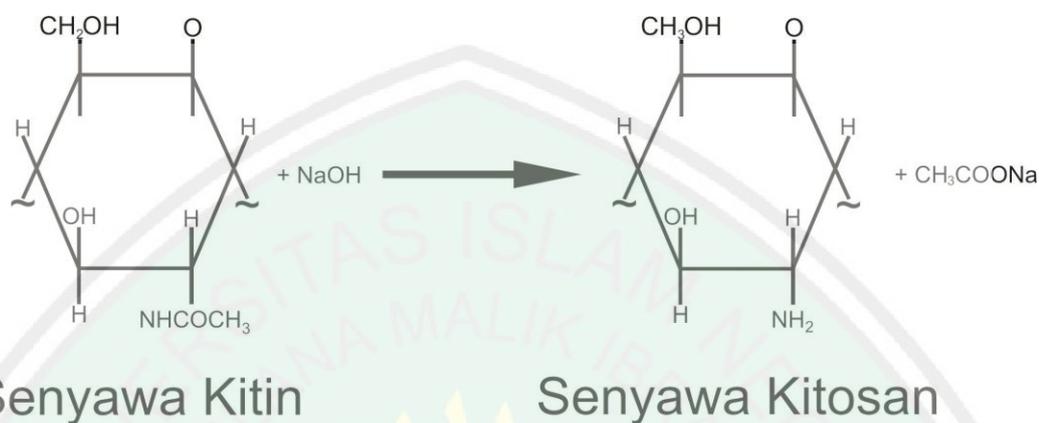
Kitosan merupakan bahan pengawet yang biasanya dibuat dari cangkang udang. Cangkang udang yang lebih sering menjadi limbah ternyata bermanfaat untuk umat manusia. Cangkang udang ini dapat menjadi produk berupa kitosan yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Sulistijowati dkk., 2014).

2.2.1 Proses Pembentukan Kitosan

Kitosan merupakan senyawa kimia yang berasal dari bahan hayati kitin, yang merupakan suatu senyawa organik yang melimpah di alam ini setelah selulosa. Kitin umumnya didapatkan dari kerangka hewan invertebrata dari kelompok *Arthropoda sp*, *Molusca sp*, *Coelenterata sp*, *Annelida sp*, *Nematoda sp*, dan beberapa kelompok jamur. Selain dari kerangka hewan invertebrata, juga banyak ditemukan pada bagian insang ikan, thachea, dinding usus, dan pada kulit cumi-cumi. Sebagai sumber utamanya ialah cangkang *Crustacea sp*, yaitu udang, lobster, kepiting dan hewan yang bercangkang lainnya, terutama asal laut. Sumber ini diutamakan karena bertujuan untuk memberdayakan limbah udang (Purwatiningsih, 1992).

Proses deasetilasi merupakan proses pembentukan kitosan dari kitin menggunakan NaOH untuk mengganti gugus asetamida dengan gugus amino. Semakin tinggi konsentrasi NaOH, derajat deasetilasi (DD) semakin besar, namun hal ini tidak selalu memberikan kenaikan DD yang signifikan. Adapun reaksi

pembentukan kitosan dari kitin adalah dapat dilihat pada gambar 2.1 (Hargono & Sumantri, 2008)



Gambar 2.1 Proses Pembentukan Kitosan (Hargono & Sumantri, 2008)

2.2.2 Sifat-sifat Kitosan

Kitosan merupakan olahan dari kitin yang telah mengalami proses deasetilasi. Unit penyusunan kitosan merupakan disakarida (1-4)-2-amino-deoksi-D-glukosa yang saling berikatan beta. Penampilan fungsional kitosan ditentukan oleh sifat fisik dan kimiawinya. Seperti halnya dengan polisakarida lain, kitosan memiliki kerangka gula, tetapi dengan sifat unik karena polimer ini memiliki gugus amin bermuatan positif sedangkan polisakarida lain umumnya bersifat netral atau bermuatan negatif (Lestari & Maggy, 2000).

Kitosan bersifat mudah mengalami degradasi secara biologis, tidak beracun, berat molekul tinggi dan tidak larut pada pH 6,5 (Alamsyah, 2000).

2.2.3 Aktivitas Antibakteri Kitosan

Menurut Sudurshan *et al.*, (1992) menunjukkan aktivitas antimikroba kitosan dipengaruhi oleh interaksi antara muatan positif molekul kitosan dan muatan negatif residu sel mikroba yang berperan penting dalam memberikan efek

penghambatan kitosan pada mikroorganisme. Feng & Zheng (2003) juga menjelaskan bahwa aktivitas antimikroba dari kitosan meningkat seiring dengan meningkatnya derajat deasetilasi dan juga mempunyai aktivitas yang lebih kuat dalam melawan bakteri.

Mekanisme kerja antibakteri dari kitosan dapat terjadi ketika muatan kation dari gugus amino kitosan menarik komponen anion dari membran sel mikroba, seperti asam N-asetilmuramat, asam sialat, dan asam neraminat (Cheng & Li, 2000). Kondisi ini akan mengakibatkan penghambatan kerja enzim dan pengikatan ion-ion logam sebagai kofaktor, sehingga pertumbuhan mikroba terhambat. Sementara menurut Rashidova *et al.*, (2008) adanya kitosan akan menyebabkan lisis dari integritas membran eksternal mikroba yang terdiri dari lipopolisakarida, glikoprotein, dan fosfolipid. Hal ini menyebabkan perubahan struktur membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel dan sensitifitas sel terhadap antibiotik. Kondisi tersebut dapat menyebabkan kematian sel mikroba.

Senyawa kitosan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dibandingkan bakteri gram positif (Chen *et al.*, 2002). Menurut Chung *et al.*, (2004) hal ini disebabkan karena membran sel bakteri gram negatif memiliki muatan negatif (anion) yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram positif, sehingga lebih mudah menyerap kitosan ke dalam sel. Adsorpsi kitosan akan menghasilkan perubahan besar dalam struktur dinding sel dan permeabilitas dari membran sel. Kedua efek samping menyebabkan kematian bakteri. Kitosan lebih mudah membawa gugus amino yang bermuatan positif

(NH₃⁺) dalam larutan asam lebih banyak dan tingkat deasetilasi lebih tinggi akan menghasilkan adsorpsi lebih besar.

2.3 Kunyit

Kunyit merupakan salah satu tanaman rempah obat. Hampir setiap orang Indonesia pernah mengkonsumsi tanaman rempah ini baik sebagai bumbu masakan, jamu, maupun untuk menjaga kesehatan dan kecantikan.

2.3.1 Klasifikasi Kunyit

Berikut klasifikasi (taksonomi) kunyit berdasar *Natural Resources Conservation Service* (USDA, 2013).

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Zingiberidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Curcuma</i> L.
Spesies	: <i>Curcuma longa</i> L.

2.3.2 Nomenklatur Kunyit

Kunyit dikenal dengan nama ilmiah *Curcuma longa* Linn., *Curcuma domestica* Valetton., *Curcuma domestica* Rumph. (Dalimartha, 2009)

Di Indonesia, kunyit memiliki banyak nama yang berbeda sesuai dengan bahasa daerah masing-masing. Di Jawa kunyit dikenal sebagai kunyir, koneng, koneng temen, kunir, kunir bentis, temu kuning, konye, temu koneng. Di Kalimantan kunyit dikenal sebagai kunit, jenar, henda, cahang, dio, kalesiau. Di Sumatera kunyit dikenal sebagai kakunye, kunyet, kuning, hunik, unik, odil, kondin, under, kunyir, jiten. Di Nusa Tenggara kunyit dikenal sebagai kunyik, huni, kaungi, wingir, winguru, dingira, hingiro, kunita, kunyi, konyi, wingira, kewunyi, kuneh, guni, kuma, kumoh, kunik, unik, hunik, kunir. Di Sulawesi kunyit disebut uinida, kuni, hamu alawahu, kolalagu, pagidon, uni, kunyi, unyi, nuyik. Di Maluku kunyit disebut kurlai, lulu malai, ulin, turn, unin, ina, kunin, uni, unine, one, enelo, kumino, union, uninun, kunine, kunino, uni henal, kone, konik, kuni, kon, gurati, gulati, gogohiki, guraci. Sedangkan di Irian, kunyit dikenal sebagai rame, kendeifu, nikwai, mingguai, dan yau (Dalimartha, 2009).

Di luar negeri kunyit memiliki nama sendiri, diantaranya jiang huang (China); turmeric, common turmeric, Indian saffron, curcuma, yellow ginger (Inggris); dilao (tagalog); kurkuma (Belanda, Jerman) (Dalimartha, 2009).

Rimpang kunyit (simplisia) sendiri memiliki nama ilmiah *Rhizoma Curcumae Longa* atau *Curcuma Domesticae Rhizoma* (Dalimartha, 2009).

2.3.3 Habitat dan Morfologi Kunyit

Kunyit merupakan tanaman herba dengan tinggi mencapai 100 cm. Batang semu, tegak, bulat, membentuk rimpang, berwarna hijau kekuningan. Daun tunggal, lanset memanjang, tepi rata, panjang 20-40 cm, lebar 8-12,5 cm, pertulangan menyirip, berwarna hijau pucat, helai daun berjumlah 3-8 dan

pangkal runcing. Bunga tumbuh dari ujung batang semu, panjang 10-15 cm, bunga berwarna kuning atau kuning pucat, mekar secara bersamaan. Rimpang induk bercabang, rimpang cabang lurus atau sedikit melengkung, keseluruhan rimpang membentuk rumpun yang rapat, berwarna jingga, tunas muda berwarna putih. Akar serabut berwarna coklat muda (Syukur & Hernani, 2002).

Kunyit dapat tumbuh di daerah tropis dan sub tropis mulai dari ketinggian 240-2000 meter di atas permukaan laut. Daerah dengan curah hujan 2000-4000 mm/tahun merupakan tempat tumbuh yang baik bagi kunyit. Kunyit dapat pula tumbuh di daerah dengan curah hujan kurang dari 1000 mm/tahun, tetapi diperlukan pengairan yang cukup dan tertata dengan baik (Syukur & Hernani, 2002). Kunyit dapat tumbuh dan biasa ditanam di Asia seperti India, China, dan Negara lainnya yang beriklim tropis (Kumar *et al.*, 2011)



Gambar 2.2 Rimpang Kunyit (Sumiati, 2004)

2.3.4 Khasiat Kunyit

Kunyit merupakan tanaman herba yang dapat hidup di lingkungan tropis dan subtropis (Tilaar, 2002). Rimpang kunyit dapat digunakan sebagai antikoagulan, menurunkan tekanan darah, obat malaria, obat cacing, bakterisida, obat sakit perut, memperbanyak ASI, fungisida, stimulan, mengobati keseleo,

memar dan rematik, obat asma, diabetes mellitus, usus buntu, amandel, sariawan, tambah darah, menghilangkan noda di wajah, penurun panas, melindungi jantung, radang hidung, menghilangkan rasa gatal, menyembuhkan kejang, mengobati luka dan obat penyakit hati. Selain obat, rimpang kunyit dapat dimanfaatkan untuk bumbu dapur. Zat warna kuning yang dikandungnya dimanfaatkan sebagai bahan pewarna alami dan tambahan untuk makanan ternak (Syukur & Hernani, 2002).

Penggunaan secara tradisional menunjukkan potensial aksi fungsional dari tumbuhan dan ekstraknya sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, dan aktivitas protektan untuk kulit. Ekstrak yang diolah dari tanaman kunyit, telah dilaporkan dalam literatur memiliki berbagai kegunaan farmakologis, termasuk pengobatan *eczema* dan kondisi kulit yang serupa, dengan bahan aktif dalam kunyit tersebut adalah kurkumin (Aburjai, 2007).

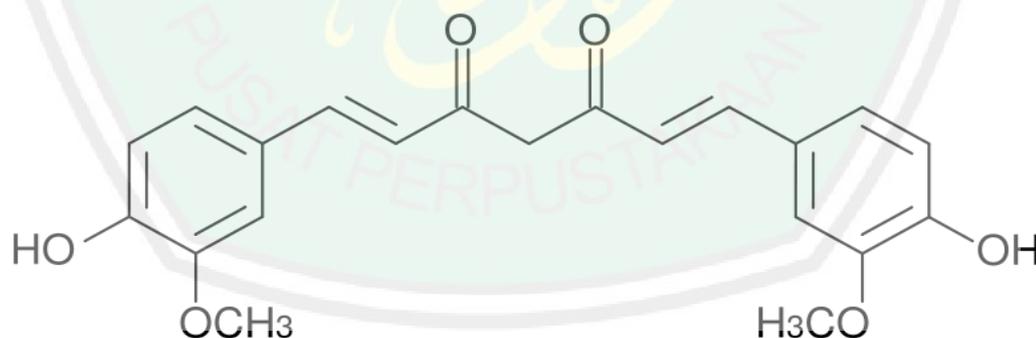
Kurkumin merupakan komponen bioaktif utama kunyit. Kurkumin telah terbukti memiliki spektrum yang luas pada aktivitas biologis, termasuk anti inflamasi, antioksidan, anti kanker, antimutagenik, antikoagulan, antifertilitas, antijamur, antiprotozoal, antivirus, antifibrotik, antivenom, antiulcer, antihipertensi, serta antibakteri (Kumar *et al.*, 2011).

Pada studi *in Vitro* lain, membuktikan bahwa senyawa aktif dalam rimpang kunyit mampu menghambat pertumbuhan jamur, virus, dan bakteri baik gram positif maupun gram negatif, seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, karena kunyit mengandung berbagai senyawa diantaranya adalah kurkumin dan minyak atsiri (Said, 2001).

2.3.5 Kandungan Kimia Kunyit

Kandungan utama dalam rimpang kunyit adalah kurkuminoida, berupa campuran kurkumin, desmetoksikurkumin, dan bidesmetoksikurkumin. Selain itu simplisia rimpang kunyit juga mengandung minyak atsiri (sekitar 3-5%) berupa seskuioterpen keton (sekitar 60%) seperti *arturmerone*, *zingiberene*, *β -atlanton*, *phellandrene*, *eugenol*, *borneol*, kandungan lainnya adalah polisakarida seperti glikan, ukonan A-D (Mun'im & Hanani, 2011).

Rimpang mengandung minyak menguap (*volatile oil*) sebesar 3-5% yang terdiri atas *turmerone*, *zingiberene*, *arturmerone*, sedikit mengandung *phellandrene*, *sesquiterpen alcohol*, dan *borneol*. Selain itu, mengandung kurkumin 0,3-4,8% yang berperan memberikan warna kuning, desmetoksikurkumin, bidesmetoksikurkumin, pati, tannin, dan dammar (Dalimartha, 2009).



Gambar 2.3 Struktur Kurkumin (Triharso, 2016)

2.3.6 Aktivitas Antibakteri Kunyit

Kurkumin merupakan suatu senyawa fenolik. Beberapa senyawa fenol diketahui dapat menurunkan tegangan permukaan sel sehingga dapat merusak permeabilitas dinding sel bakteri. Aktivitas senyawa fenol ini dapat meningkat

karena beberapa faktor antara lain karena substitusi alkil dan halogen, semakin panjang rantai alifatik dan kondisi media yang asam atau pH rendah sehingga meningkatkan aktivitas antimicrobial (Kurnia, 2010).

Dinding sel bakteri gram positif akan bermuatan negatif sebagai akibat dari ionisasi gugus fosfat dari asam teikoat pada struktur dinding selnya, sedangkan fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam lemah sehingga disebut asam karbolat. Sebagai asam lemah, senyawa fenolik dapat terionisasi melepaskan ion H dan melepaskan gugus sisanya yang bermuatan negatif. Kondisi yang bermuatan negatif ini akan ditolak oleh dinding sel gram positif yang secara alami bermuatan negatif. Senyawa fenol pada pH rendah akan bermuatan positif, sehingga senyawa fenol tidak akan terionisasi. Perbedaan muatan ini akan terjadinya daya tarik menarik antara fenol dengan dinding sel sehingga fenol secara keseluruhan dalam bentuk molekulnya akan lebih mudah melekat atau melewati dinding sel gram positif (Kurnia, 2010).

Tidak terdapatnya asam teikoat pada dinding sel bakteri gram negatif menyebabkan bakteri golongan ini lebih tahan terhadap senyawa fenol dibanding gram positif. Konsentrasi penghambatan bubuk kunyit terhadap bakteri gram negatif *Escherichia coli* adalah 7g/L (Kurnia, 2010).

Mekanisme komponen antibakteri fenolik pada umumnya akan berinteraksi dengan protein yang ada pada dinding sel atau sitoplasma melalui ikatan hidrogen (Naidu & Davidson, 2000). Mekanisme lain dari ekstrak kunyit dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan mengganggu aktivitas enzim dalam sel. Menurut Huhtanen (1980) bahwa ekstrak kunyit dalam etanol

dapat menghambat *Clostridium botulinum* dan nilai MIC sebesar 500µg/mL dapat mengawetkan pangan.

2.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri indikator kualitas air minum karena keberadaannya di dalam air mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses, yang kemungkinan juga mengandung mikroorganisme *enteric pathogen* lainnya (Anggraini dkk., 2013). *E. coli* juga bertanggung jawab kepada hampir semua infeksi klinis yang disebabkan oleh genus *Escherichia*, sementara spesies lainnya menyebabkan kurang dari 1% infeksi (Dzen dkk., 2010). *E. coli* merupakan flora normal intestinal yang mempunyai kontribusi pada fungsi normal intestinal dan nutrisi, tetapi bakteri ini akan menjadi patogen bila jumlahnya banyak dan apabila mencapai jaringan di luar jaringan intestinal (Noviana, 2004).

2.4.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi (taksonomi) *Escherichia coli* menurut (Brooks dkk., 2007) adalah sebagai berikut.

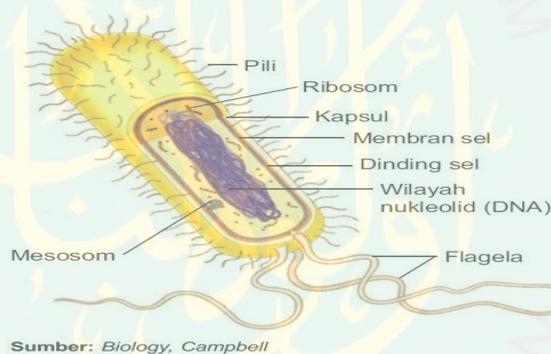
Kingdom	: Prokaryotae
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

2.4.2 Morfologi *Escherichia coli*

E. coli termasuk jenis bakteri gram negatif. Secara global bakteri dapat dibagi kedalam dua kelompok besar setelah diwarnai menurut metode sarjana Denmark dr. Gram, yakni bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki membran luar yang untuk sebagian besar terdiri dari suatu kompleks lipopolisakarida-endotoksin. Sedangkan bakteri gram positif mengandung peptidoglikan pada membran luarnya (Tjay & Rahardja, 2007)

Bakteri gram positif adalah jenis bakteri dengan dinding peptidoglikan yang tebal, sementara bakteri gram negatif adalah jenis bakteri dengan dinding peptidoglikan yang tipis (seperlima dari bakteri gram positif). Perbedaan ketebalan dinding ini mengakibatkan perbedaan kemampuan afinitas dengan pewarna gram. Dinding peptidoglikan memiliki afinitas yang kuat dengan cat gram, sehingga bakteri dengan dinding peptidoglikan tebal akan mengikat cat gram dengan kuat, sehingga disebut bakteri gram positif. Sebaliknya, dinding peptidoglikan tipis pada bakteri gram negatif tidak memiliki afinitas yang tinggi dengan cat gram, sehingga disebut bakteri gram negatif. Hasil pewarnaan gram adalah bakteri gram positif akan berwarna ungu gelap, sementara bakteri gram negatif akan berwarna dadu atau merah (Purves & Sadava, 2003). Contoh bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Listeria*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Mycobacterium*, *Propionibacterium*, dan *Mycoplasma*. Sedangkan contoh bakteri gram negatif yaitu *Salmonella*, *Escherichia*, *Shigella*, *Neisseria*, *Bordetella*, *Legionella*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Haemophilus*, *Treponema*, dan *Chlamydia*.

Escherichia coli berbentuk batang pendek (kokobasil) dengan ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm . beberapa *strain* mempunyai kapsul (Karsinah dkk., 2010). Bakteri *E. coli* umumnya bersifat motil dengan flagel peritrik yang dimilikinya (Noviana, 2004). *E. coli* dan bakteri enterik lain membentuk koloni yang bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata di medium pertumbuhannya (Brooks dkk., 2007). Sejauh ini, ada 4 kelas *E. coli* yang bersifat enterovirulen. Keempat kelas tersebut adalah *enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC), *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC), dan *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) (Arisman, 2009).



Gambar 2.4 Struktur *E. coli* (Campbell dkk., 2002)

2.4.3 Fisiologi *Escherichia coli*

Escherichia coli tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi, terutama pada media yang dipergunakan untuk isolasi kuman enterik. Sebagai besar *strain Escherichia coli* tumbuh sebagai koloni yang meragikan laktosa. Beberapa strain menunjukkan hemolisis tipe beta apabila ditanam pada agar darah (Karsinah dkk., 2010).

2.4.4 Struktur Antigen *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae memiliki struktur antigen yang kompleks, termasuk *Escherichia coli* (Brooks dkk., 2007). Pembagian *E. coli* menurut reaksi serologis terutama ditentukan oleh tipe antigen O, tipe antigen H dan apabila dimungkinkan, dengan tipe antigen K. Terdapat lebih dari 164 antigen O, 100 antigen K, dan 50 antigen H untuk *E. coli*. Antigen H selanjutnya dibagi menjadi beberapa subgroup yaitu L, A, dan B (Dzen dkk., 2010).

Penentuan profil antigen dari berbagai galur berguna untuk penelitian epidemiologi dan beberapa penelitian yang berhubungan dengan jenis penyakit diare. Contohnya serotip O157:H7 memproduksi *Shigalike toxin* yang bertanggung jawab pada kolitis hemoragik sedangkan serotip O78:H11 dan O78:H12 hampir semuanya adalah enterotoksigenik. Tipe antigen yang lain seperti O111a, 111b:H2 berhubungan dengan diare infantile, dan galur O124:H30 adalah enteroinvasif dan menyebabkan disentri basiler mirip yang disebabkan oleh *Shigella* (Dzen dkk., 2010).

2.4.5 Patogenitas *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan mikroorganisme yang dapat menginfeksi sistem imunitas hospes. Bakteri ini memproduksi sejumlah besar faktor virulensi mulai bentuk struktural sampai toksin yang diekskresikan (Dzen dkk., 2010).

a. Antigen Permukaan

E. coli minimal terdapat dua tipe fimbriae yaitu : tipe manosa sensitif (pili) dan tipe manosa resisten (CFAs I dan II). Kedua fimbriae ini penting sebagai *colonization factor*, yaitu untuk perlekatan sel kuman pada sel atau jaringan tuan

rumah. Antigen CFAs I dan II melekatkan enteropatogenik *E. coli* pada sel usus binatang. Antigen kapsul K 1 seringkali ditemukan pada *E. coli* yang diisolasi dari pasien-pasien dengan bakteremia serta neonatus yang menderita meningitis. Peranan antigen K 1 menghalangi proses fagositosis sel kuman oleh leukosit (Karsinah dkk., 2010).

b. Enterotoksin

Salah satu mekanisme patogenik *E. coli* dalam menyebabkan penyakit gastrointestinal adalah dengan memproduksi berbagai macam enterotoksin. Organ sasarannya adalah usus kecil, dan hasilnya berupa diare sebagai akibat pengeluaran cairan dan elektrolit. Kemanapun produksi toksin bergantung oleh adanya plasmid. Plasmid adalah molekul DNA yang sirkular dan kecil yang dapat masuk ke dalam bakteri dan melakukan replikasi secara autonom, yaitu di luar genom penjamu (Mitterhuemer *et al.*, 2010).

Plasmid tertentu akan memproduksi *heat-labile enterotoxin* (LT) yang mirip dengan enterotoksin *Vibrio cholerae*. *E. coli* juga memproduksi enterotoksin yang tahan panas (ST-I dan ST-II). ST-I berikatan kuat dengan reseptor intestinal spesifik kemudian mengaktifkan guanilatsiklase pada sel Na dan Cl oleh membran *brush border*. Mekanisme ST-II masih belum diketahui, tapi tidak melibatkan produksi siklik nukleotida (Mitterhuemer *et al.*, 2010).

c. Verotoksin

E. coli yang diinfeksi oleh bakteri ofaga dapat memproduksi sitotoksin yang disebut verotoksin. Disebut verotoksin karena efek sitotoksiknya yang menetap pada kultur sel pada jaringan Vero, yaitu suatu lapisan sel yang berasal

dari sel ginjal nera. Ada dua verotoksin yaitu VT-1 dan VT-2 (Dzen dkk., 2010). *Verotoxigenic Escherichia coli* (VTEC) berhubungan dengan tiga sindroma pada manusia, yaitu diare, colitis hemoragik, dan *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) (Dzen dkk., 2010).

2.5 Penyarian Senyawa Aktif

Ekstrak adalah sediaan padat yang didapatkan dari menyari zat aktif dari tanaman atau hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai kemudian dilakukan penguapan terhadap pelarut tersebut sedemikian hingga tersisa massa serbuk atau ekstrak sesuai baku yang ditetapkan (Dirjen POM, 1995).

Ekstraksi adalah suatu proses untuk mendapatkan kandungan kimia dari suatu tanaman dan hewan dengan menggunakan pelarut atau penyari yang sesuai. Pelarut yang biasa digunakan adalah air, etanol, atau campuran dari keduanya (Dirjen POM, 1979). Secara garis besar ada 2 macam proses ekstraksi yaitu cara dingin dan cara panas.

2.5.1 Cara Dingin

Ekstraksi cara dingin artinya tidak ada proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya untuk menghindari rusaknya senyawa karena pemanasan. Metode ini memiliki keuntungan yaitu meminimalkan kerusakan kandungan yang bersifat termolabil (Istiqomah, 2013).

a. Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerace* yang berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi adalah salah satu dari metode ekstraksi cara dingin dengan

cara merendam simplisia tanaman dengan menggunakan pelarut di dalam wadah tertutup selama kurun waktu tertentu dengan diselingi pengadukan dan dilakukan pada suhu kamar (Istiqomah, 2013).

Prinsip dari metode ini adalah didapatkannya kesetimbangan antara konsentrasi di dalam dan luar sel tanaman sehingga mampu melarutkan atau mengeluarkan konstituen aktif dari dalam sel tanaman melalui mekanisme difusi (Istiqomah, 2013).

Keunggulan dari metode ini adalah pengerjaan yang cukup mudah serta dengan peralatan yang sederhana dan murah, namun metode ini juga memiliki kekurangan yaitu pengerjaannya cukup lama dan membutuhkan banyak pelarut (Istiqomah, 2013).

b. Perkolasi

Perkolasi berasal dari kata *percolare* yang berarti penetesan. Perkolasi merupakan proses penyarian dengan menggunakan prinsip mengalirkan pelarut di dalam benjana *percolator* yang telah berisi serbuk simplisia secara terus menerus sampai didapatkan ekstrak yang beratnya 1-5 kali bahan (Istiqomah, 2013).

c. Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi ultrasonik adalah metode ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz (Suslick, 1988). Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive*, sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (McClements, 1995). Salah satu manfaat metode ekstraksi ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi (Kuldiloke, 2002).

2.5.2 Cara Panas

Ekstraksi cara panas ialah ekstraksi yang melibatkan panas dalam prosesnya. Dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses penyarian dibandingkan cara dingin.

a. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada titik didihnya selama beberapa waktu tertentu dan berulang-ulang tanpa mengganti atau menambah pelarut, hal ini bisa dilakukan karena terdapat mekanisme pendinginan balik sehingga pelarut yang menguap akan kembali mengembun dan masuk ke dalam wadah untuk diuapkan lagi (Istiqomah, 2013).

b. Digesti

Merupakan jenis maserasi kinetik (menggunakan pengadukan) namun tidak dilakukan pada suhu ruangan melainkan pada suhu 40-50° C (Istiqomah, 2013).

c. Infusa

Merupakan jenis ekstraksi yang cocok digunakan untuk bahan tanaman yang lunak. Metodenya adalah dengan memanaskan benjana infusa yang berisi air dan simplisia di atas penangas air yang mendidih selama 15 menit (Istiqomah, 2013).

d. Dekokta

Secara prinsip mirip dengan infusa hanya saja waktu yang digunakan untuk menyari lebih lama yaitu 30 menit. Metode ini cocok digunakan untuk simplisia tanaman yang keras seperti akar atau batang tanaman (Istiqomah, 2013).

e. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan suatu metode penyarian cara panas dengan prinsip menyerupai refluks hanya saja dengan menggunakan suatu alat khusus yaitu ekstraktor soxhlet. Metode ini menggunakan suhu yang lebih rendah dibandingkan refluks dan memungkinkan penggunaan pelarut yang lebih sedikit (Siahaan, 2010).

2.5.3 Pelarut

Kegunaan pelarut dalam proses ekstraksi adalah untuk melarutkan senyawa aktif yang terkandung di dalam tanaman. Jenis pelarut yang sering digunakan untuk melarutkan senyawa dalam tanaman salah satunya adalah etanol, karena etanol memiliki kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain. Selain itu, etanol juga dapat dicampurkan dengan air dalam perbandingan berapapun dan juga memiliki titik didih yang rendah, yaitu 78° C, sehingga mudah untuk dipisahkan nantinya. Pelarut lain yang sering digunakan adalah N-heksana, isopropanolol, etil asetat, dan aseton (Susanti dkk., 2012).

Menurut Guenther (1987) pelarut sangat mempengaruhi proses ekstraksi, sehingga diperlukan pemilihan pelarut yang tepat. Pertimbangan pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi adalah :

- a. Selektivitas pelarut dalam melarutkan semua zat yang akan diekstrak dengan cepat dan sempurna.

- b. Pelarut harus memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi pada proses pemurnian dan jika diuapkan tidak tertinggal dalam minyak.
- c. Pelarut bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan senyawa atau komponen lainnya.
- d. Harga pelarut semurah mungkin.

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode pengenceran (dilusi) atau metode perembesan (difusi) (Jawetz & Adelberg's, 2005).

2.6.1 Metode Dilusi

a. Dilusi Tabung

Metode dilusi menggunakan satu set tabung reaksi yang diisi dengan media cair dan sejumlah mikroba. Lalu masing-masing tabung diuji dengan zat antimikroba yang telah diencerkan. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu kurang lebih 36°C selama 18-24 jam, kemudian diamati koloni bakteri yang berkembang. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari suatu zat (Jawetz & Adelberg's, 2005).

KHM ditentukan dari konsentrasi terendah zat yang menunjukkan hasil biakan mulai tampak jernih. Sedangkan KBM ditentukan dari konsentrasi terendah dari zat yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri dalam

tabung dibuktikan dengan penampakan tabung yang jernih. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan adalah 10^5 - 10^8 CFU/mL (Jawetz & Adelberg's, 2005).

b. Dilusi Agar

Metode ini dilakukan dengan menggunakan agar padat. Caranya dengan mencampurkan zat antimikroba dengan agar yang masih cair dan tidak terlalu panas sampai homogen kemudian dibiarkan sampai campuran tersebut memadat. Bakteri yang akan diuji dioleskan di atas media tersebut. Syarat jumlah bakteri adalah 10^5 - 10^8 CFU/mL, setelah itu diinkubasi pada suhu 35° C selama 24 jam. Interpretasinya adalah konsentrasi terendah yang mengandung kurang dari tiga koloni disebut sebagai KHM (Jawetz & Adelberg's, 2005).

2.6.2 Metode Difusi

a. Difusi Cakram

Merupakan salah satu metode uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan. Prinsip metode ini adalah zat antibakteri dari cakram akan berpindah ke dalam media agar melalui mekanisme perembesan atau difusi sehingga menghasilkan area hambatan yang bebas dari koloni bakteri. Semakin bagus aktivitas antibakterinya maka semakin besar pula area hambatannya (Mohanty *et al.*, 2010).

Metodenya adalah dengan meratakan bakteri pada permukaan agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama semalaman. Cakram yang sudah diberi zat uji diletakkan di atas media agar lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama sehari. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 10^5 - 10^8 CFU/mL (Pati & Kurade, 2011).

b. Difusi *Epsilon*meter Test (*E-Test*)

Metode ini menggunakan satu set strip plastik yang sudah diberi agen antimikroba dari konsentrasi terendah hingga tinggi, kemudian diletakkan diatas media agar yang sudah ditanami bakteri lalu diinkubasi. Interpretasinya adalah diukur area jernih pada media agar yang menunjukkan adanya daya hambat bakteri pada media agar. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 10^5 - 10^8 CFU/mL (Pratiwi, 2009).

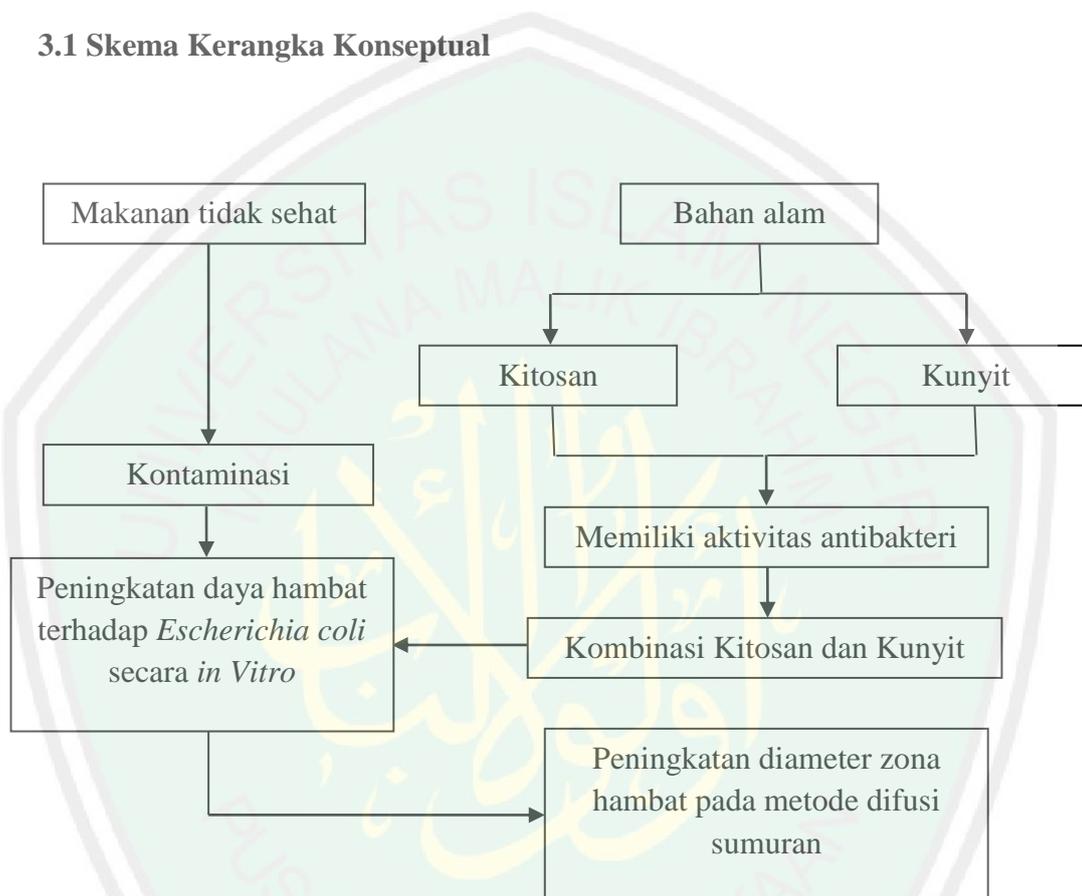
c. Difusi Sumuran

Metode Ini diawali dengan membuat sumur (lubang) secara membujur pada media agar, kemudian zat antimikroba diletakkan pada sumur tersebut. Bakteri uji dioleskan kearah sumur (lubang) yang sudah berisi agen antimikroba. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 10^5 - 10^8 CFU/mL (Pratiwi, 2009).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Skema Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konseptual

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Makanan yang tidak sehat dapat disebabkan dari berbagai hal, salah satunya yaitu pencemaran makanan. Salah satu bakteri yang sering dijadikan indikator terjadinya pencemaran makanan adalah *Escherichia coli*. *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki dinding sel dan bakteri golongan ini bersifat anaerobic fakultatif (Jawetz & Adelberg's, 2001). *E. coli* terdapat pada saluran usus manusia sebagai flora normal. Kebanyakan jenis dari bakteri ini

sebenarnya adalah bakteri yang tidak berbahaya di dalam saluran pencernaan dan baru menjadi patogen apabila berada di dalam jaringan tubuh diluar saluran pencernaan. Meski demikian, sebagian di antaranya bisa menyebabkan keracunan makanan dan infeksi yang cukup serius.

Kitosan adalah suatu polisakarida yang didapatkan dari hasil deasetilasi kitin, yang umumnya berasal dari limbah kulit hewan Crustacea. Kitosan telah digunakan diberbagai bidang industri, misalnya industri makanan, farmasi, kosmetik, dan pertanian. Kitosan juga sering digunakan sebagai antibakterial karena rantai kitosan memiliki gugus amino dan gugus hidroksil untuk bereaksi (Juang *et al.*, 2002).

Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat terutama bagian rimpangnya. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hidayati dkk., (2002) secara *in Vitro*, membuktikan bahwa senyawa aktif dalam rimpang kunyit mampu menghambat pertumbuhan jamur, virus, dan bakteri baik gram positif maupun gram negatif, seperti *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*, karena kunyit mengandung berbagai senyawa diantaranya adalah kurkumin dan minyak atsiri (Said, 2001). Dengan demikian, kitosan dan ekstrak kunyit akan memeberikan hasil kombinasi terhadap daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Kombinasi antara kitosan dan ekstrak kunyit dapat meningkatkan daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*.

BAB IV

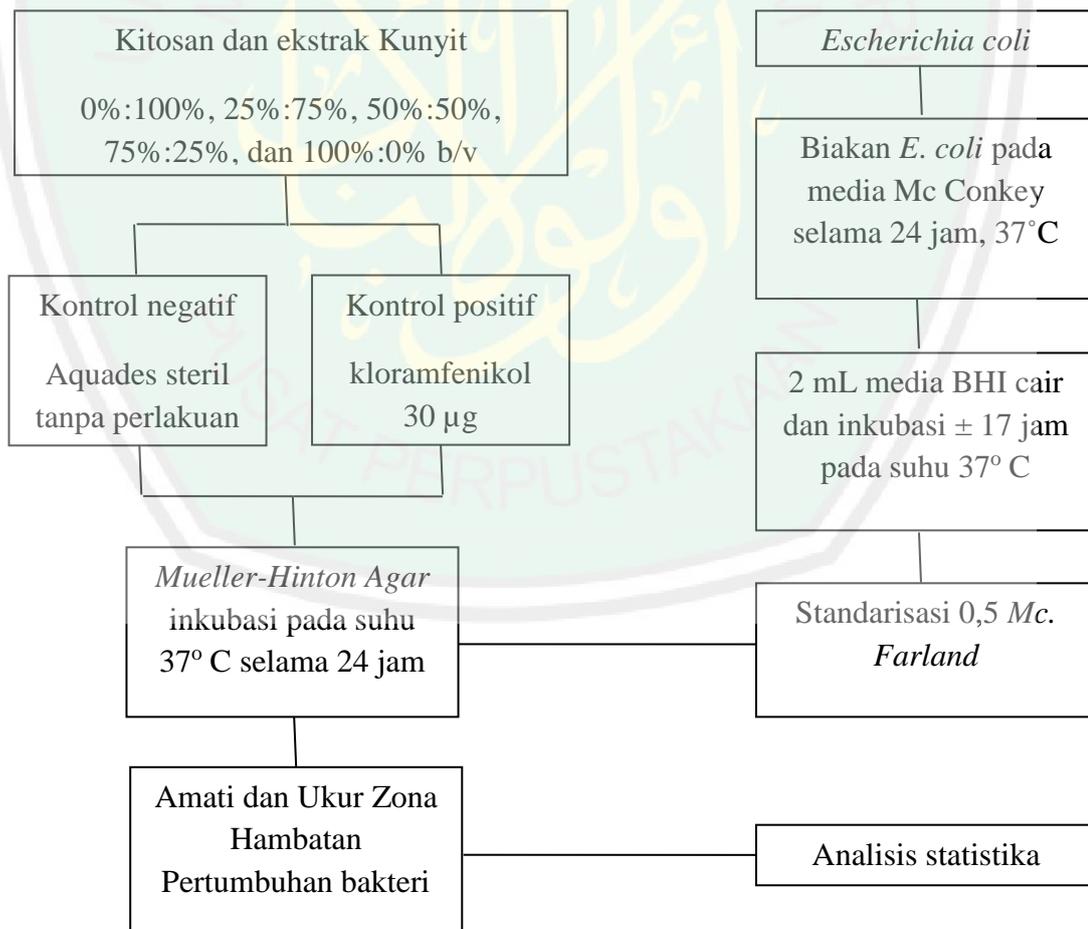
METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

4.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini merupakan studi eksperimental. Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran.

4.1.2 Rancangan Penelitian



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk melakukan ekstraksi, sedangkan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Februari 2017 hingga September 2017.

4.3 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *E. coli*, sedangkan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah koloni bakteri *E. coli* yang telah diisolasi dan dibiakkan dari laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Perhitungan pengulangan sampel dalam penelitian ini menggunakan rumus $p(n-1) \geq 15$ dan hasil akhirnya harus bulat (Basuki, 2008). Jumlah sampel perlakuan penelitian yaitu :

Tabel 4.1 Jumlah Sampel Perlakuan Penelitian

Perlakuan	Kitosan	Kunyit
1.	0%	100%
2.	25%	75%
3.	50%	50%
4.	75%	25%
5.	100%	0%
6.	Kontrol Positif	
7.	Kontrol Negatif	

Sehingga banyaknya pengulangan yang perlu dilakukan pada masing-masing sampel adalah :

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

p = Jumlah perlakuan

$$7(n-1) \geq 15$$

n = Jumlah pengulangan

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14$$

Berdasarkan perhitungan di atas didapatkan jumlah pengulangan yang digunakan adalah 4 kali pengulangan untuk masing-masing sampel.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel penelitian

Variabel dalam penelitian ini dibagi menjadi dua, yaitu variabel bebas dan variabel terikat.

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi kitosan dan konsentrasi ekstrak kunyit.

b. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah peningkatan daya hambat kitosan dan ekstrak kunyit terhadap bakteri *E. coli*.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah proses ekstraksi, pelarut, dan metode uji aktivitas antibakteri.

4.4.2 Definisi Operasional

- a. Bakteri *E. coli* O157:H7 adalah biakan murni yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang.
- b. Ekstrak kunyit adalah sediaan ekstrak dari simplisia serbuk kunyit dengan cara mengekstraksi simplisia serbuk kunyit dengan etanol 96% yang telah dilakukan redistilasi dengan satuan ukuran millimeter (mL) menggunakan ekstraksi ultrasonik.
- c. Konsentrasi kitosan dan ekstrak kunyit yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, dan 100%:0% b/v.
- d. Aktivitas antibakteri kitosan dan ekstrak kunyit terhadap *E. coli* dilihat dari ada tidaknya efek penghambatan dari pertumbuhan koloni bakteri dengan cara mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan penggaris pada masing-masing media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) yang telah diberi kitosan dan ekstrak kunyit berkonsentrasi 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, dan 100%:0% b/v diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

- Alat ekstraksi ultrasonik
- Aluminium foil
- *Autoclave*
- Batang pengaduk

- Bola hisap
- Botol semprot
- Bunsen
- Cawan petri
- Cawan porselen
- Corong gelas
- Desikator
- Gelas beaker
- Gelas ukur
- Gunting
- Jangka sorong
- Jarum ose
- Kaki tiga
- Kawat kasa
- Labu erlenmayer
- Mikropipet
- Oven
- Penggaris
- Penjepit
- Pipet ukur
- Plastik wrap
- Rak tabung reaksi
- *Rotary evaporator*



- Sendok tanduk
- Spatula
- Spidol
- Tabung reaksi
- Timbangan analitik
- Vial

4.5.2 Bahan

- Bahan utama :
 - a. kitosan yang didapatkan dari CV. Amani Malang.
 - b. Simplisia serbuk kunyit didapatkan dari UPT Materia Medica Batu.
- Bahan penyari :
 - a. Etanol 96% teknis yang didapatkan dari CV. Panadia
 - b. Kertas saring
- Bahan uji aktivitas bakteri :
 - a. Media : *Mc. Conkey Agar*, *Mueller-Hinton Agar (MHA)*, dan *Brain Heart Infusion (BHI) broth*.
 - b. Antibiotik Kloramfenikol
 - c. Aqudest steril
 - d. Millipore
 - e. Sput
 - f. Standarisasi 0,5 *Mc. Farland*
 - g. Tween 80

- Biakan :

Bakteri *E. coli* O157:H7 yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang

4.6 Prosedur Pengumpulan Data

4.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di UPT Materia Medica Batu dengan menggunakan buku acuan *Flora*, karangan CGGJ. Van Steenis (2008), untuk mendapat kepastian bahwa tanaman yang digunakan merupakan jenis tanaman kunyit (*Curcuma longa* Linn.).

4.6.2 Uji Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan menggunakan *Moisture Analyzer* dengan 3 kali replikasi. Penggunaan *Moisture Analyzer* dipilih karena memiliki beberapa keuntungan yaitu waktu pengujian yang lebih cepat, cara pengoperasian yang lebih mudah, serta dapat meminimalisir adanya *human error* pada monitor (Kumalasari, 2012).

Pengujian kadar air ini dilakukan dengan cara *Moisture Analyzer* diset untuk menghitung kadar air. Diambil beberapa sampel ekstrak kunyit dan diletakkan merata pada piring aluminium dalam *Moisture Analyzer*. Ditunggu dan ditunggu hasil kadar air yang muncul pada layar *Moisture Analyzer*. Dicatat hasil kadar air yang didapatkan.

4.6.3 Ekstraksi Kunyit

Pembuatan ekstrak dilakukan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dengan bahan penyari etanol 96% yang telah dilakukan redistilasi. Metode

ekstraksi ultrasonik ini dipilih karena waktu pengerjaan yang relatif singkat dan memperoleh hasil yang tinggi (Kuldiloke, 2002).

Simplisia serbuk kunyit ditimbang sebanyak 25 gram, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:20. Cara melarutkan simplisia serbuk kunyit dengan etanol 96% dilakukan dengan tiga tahap. Pada tahap pertama simplisia serbuk kunyit yang telah ditimbang dilarutkan di labu erlenmayer dengan 200 mL etanol 96%, kemudian diletakkan di alat ekstraksi ultrasonik selama 2 menit lalu diangkat dan dikocok. Diulangi langkah tersebut sampai tiga kali. Pada pengulangan ketiga setelah diangkat tidak perlu dikocok, namun langsung dilakukan penyaringan dengan kertas saring untuk memisahkan endapan dan filtrat ekstrak kunyit. Pada tahap kedua, endapan hasil tahap pertama dilarutkan dengan 150 mL etanol 96%, kemudian dilakukan langkah yang sama seperti tahap pertama. Pada tahap ketiga, endapan hasil tahap kedua dilarutkan dengan 150 mL etanol 96%, kemudian dilakukan langkah yang sama seperti tahap pertama dan kedua.

Setelah didapatkan filtrat ekstrak kunyit, selanjutnya dilakukan evaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai etanol habis menguap dan hanya sisa ekstrak berair saja. Selanjutnya kandungan air yang ada dihilangkan melalui pemanasan dalam oven dengan suhu 40°C selama 72 jam.

4.6.4 Identifikasi KLT Ekstrak Kunyit

Identifikasi fitokimia dilakukan dengan uji senyawa fenolik menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Metode ini dilakukan dengan cara menotolkan ekstrak kunyit pada plat silica gel F254 dengan ukuran 1 cm x 10 cm.

Selanjutnya diberi penanda garis pada tepi bawah plat pada jarak 1 cm untuk menunjukkan posisi awal totalan dan 1 cm dari tepi atas untuk menunjukkan batas dari proses elusi. Kemudian plat dimasukkan dalam *Chamber* yang telah berisi eluen yang terdiri dari n-butanol : asam asetat : air (9:2:6). Setelah itu diamati menggunakan sinar UV dan digunakan FeCl_3 1% sebagai penampak noda. Selanjutnya dihitung nilai Rf yang dihasilkan.

4.6.5 Uji Mikrobiologi

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat gelas, cawan petri, jarum ose yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan, selanjutnya dibungkus dengan aluminium foil dan disterilkan dengan oven pada suhu 160°C selama 2 jam. Bahan-bahan yang akan digunakan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Pembuatan media

Mueller-Hinton Agar (MHA) ditimbang sejumlah 7,6 gram dan dilarutkan dengan 250 mL aquades. Setelah itu dipanaskan hingga mendidih dan larutan berwarna menjadi bening. Kemudian dipipet ke dalam cawan petri dan dilakukan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu disimpan pada lemari pendingin.

c. Pembuatan konsentrasi

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades steril dan surfaktan yang digunakan adalah tween 80.

Tabel 4.2 Pembuatan Konsentrasi

Konsentrasi	Bahan	Pelarut	Surfaktan
0%	0 g	2 mL	50 μ L
25%	0,5 g	2 mL	50 μ L
50%	1 g	2 mL	50 μ L
75%	1,5 g	2 mL	50 μ L
100%	2 g	2 mL	50 μ L

d. Pembuatan kontrol positif dan kontrol negatif

Untuk kontrol positif penelitian ini digunakan kloramfenikol 30 μ g/mL, sedangkan untuk kontrol negatif pada penelitian adalah medium agar yang diberikan aquades steril tanpa diberikan perlakuan.

e. Pemiakan bakteri

Bakteri diambil 1-2 ose digoreskan pada media *Mc. Conkey*, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sampai membentuk koloni.

f. Pembuatan suspensi bakteri

Untuk pembuatan suspensi bakteri dengan menggunakan media BHI cair dengan cara mengambil 1-2 ose bakteri dari media *Mc. Conkey* kemudian ditanam pada 2 mL media BHI cair kemudian diinkubasi selama ± 17 jam pada suhu 37°C pada tabung reaksi sampai dengan mencapai standarisasi 0,5 *Mc. Farland* (10^8 CFU/mL).

g. Uji aktivitas antibakteri

Untuk pengujian antibakteri disini media yang digunakan yaitu media *Mueller-Hinton Agar (MHA)*. Bakteri yang telah distandarisasi 0,5 *Mc. Farland*

(10^8 CFU/mL) masing-masing dioleskan dan diratakan pada media *Muller Hinton*. Kemudian pada masing-masing cawan petri *Mueller-Hinton Agar (MHA)* dilubangi dan ditetesi dengan kitosan dan ekstrak *C. longa* 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, dan 100%:0% b/v serta diberikan kontrol positif dan negatif pada masing-masing bakteri. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dengan menggunakan jangka sorong.

4.7 Analisa Data

Analisa data pada penelitian ini diolah dengan metode uji statistik, yaitu menggunakan uji *Independent t-test*. Uji statistik menggunakan uji *Independent t-test* ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan dengan cara membandingkan diameter zona hambat koloni bakteri *E. coli* antara kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit pada konsentrasi 0%;100% dengan kontrol positif.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Pemanfaatan Kitosan dan Kunyit

Allah SWT menciptakan bumi sebagai sumber rezeki dan kehidupan bagi manusia. Makan adalah kebutuhan manusia yang sangat mendasar. Tidak hanya memberikan energi, namun makanan yang kita makan menentukan bentuk pertumbuhan kita dalam hidup. Melalui pola makan yang sehat, kondisi fisik tubuh akan lebih terjamin sehingga tubuh akan dapat melakukan aktifitasnya dengan baik pula (Sulistyoningsih, 2011). Kita akan lebih bersemangat untuk bekerja, berpikir, dan akan lebih produktif dengan tubuh yang sehat. Pola hidup yang sehat terjadi jika individu mengkonsumsi makanan yang sehat. Sebaliknya pola hidup yang tidak sehat disebabkan karena individu yang selalu mengkonsumsi makanan yang tidak sehat.

Makanan yang tidak sehat dapat disebabkan dari berbagai hal, salah satunya yaitu pencemaran makanan. Salah satu bakteri yang sering dijadikan indikator terjadinya pencemaran makanan adalah *Escherichia coli*. *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki dinding sel dan bakteri golongan ini bersifat anaerob fakultatif (Jawetz & Adelberg's, 2001). *E. coli* terdapat pada saluran usus manusia sebagai flora normal. Kebanyakan jenis dari bakteri ini sebenarnya adalah bakteri yang tidak berbahaya di dalam saluran pencernaan dan baru menjadi patogen apabila berada di dalam jaringan tubuh diluar saluran pencernaan.

Kitosan merupakan bahan pengawet yang biasanya dibuat dari cangkang udang. Cangkang udang yang lebih sering menjadi limbah ternyata bermanfaat untuk umat manusia. Cangkang udang ini dapat menjadi produk berupa kitosan yang dapat digunakan sebagai antibakteri.

Kunyit merupakan salah satu tanaman rempah obat. Hampir setiap orang Indonesia pernah mengkonsumsi tanaman rempah ini baik sebagai bumbu masakan, jamu, maupun untuk menjaga kesehatan dan kecantikan serta dapat juga digunakan sebagai bahan antibakteri. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT, sebagaimana firman-Nya :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاجْتِذَافِ اللَّيْلِ وَ النَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَ قُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ
 هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ قَعْنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“Sesungguhnya, dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang, terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka” (QS. Al-Imran : 190-191).

5.2 Determinasi Tanaman

Kitosan dan kunyit merupakan salah satu dari sekian banyak bahan alam yang ada di muka bumi serta memiliki manfaat bagi manusia khususnya sebagai antibakteri. Pada penelitian ini dilakukan kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit terhadap daya hambat *E. coli* secara *in Vitro*. Simplisia serbuk kunyit didapatkan dari UPT Materia Medica Batu dan telah dilakukan determinasi. Determinasi

dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang diinginkan. Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan dan pemilihan bahan yang akan diteliti dapat dihindari karena apabila salah dalam pengumpulan dan pemilihan bahan, maka simplisia dan hasil penelitian yang dihasilkan akan berbeda.

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa simplisia serbuk kunyit yang akan digunakan berasal dari tanaman jenis *Curcuma longa* Linn. Dari suku Zingiberaceae, seperti yang tertera pada lampiran 6.

5.3 Uji Kadar Air

Simplisia serbuk kunyit yang telah didapatkan dari UPT Materia Medica Batu dilakukan uji kadar air dengan tujuan untuk mengetahui kandungan air dalam bahan. Menurut Tiaraswara (2015) kandungan air dalam bahan dapat mempengaruhi penyimpanan simplisia sehingga mengakibatkan mudah rusak karena semakin rendahnya kandungan air, maka semakin rendah reaksi enzimatik merusak simplisia atau penurunan mutu. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan mikroorganisme lainnya. Enzim tertentu dalam sel masih dapat bekerja menguraikan senyawa aktif sesaat setelah mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu. Hal ini tidak akan terjadi jika bahan dikeringkan sehingga kadar airnya rendah.

Pada penelitian ini uji kadar air simplisia serbuk kunyit dilakukan menggunakan *Moisture Analyzer*. Penggunaan *Moisture Analyzer* untuk uji kadar air memiliki beberapa keuntungan yaitu waktu pengujian yang lebih cepat, cara

pengoperasian yang lebih mudah, serta dapat meminimalisir adanya *human error* pada monitor (Kumalasari, 2012).

Percobaan ini dilakukan dengan 3 kali replikasi. Hasil analisis rata-rata kadar air simplisia serbuk kunyit didapatkan sebesar 7,54%.

Tabel 5.1 Hasil Analisis Kadar Air Simplisia Serbuk Kunyit

Replikasi			Rata-rata
I	II	III	
7,39%	7,64%	7,59%	7,54%

Menurut Departemen Kesehatan RI (1985) simplisia dinilai cukup aman apabila mempunyai kadar air kurang dari 10% kadar hal tersebut bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri dan jamur pada tahap penyimpanan dan penghilangan kadar air dalam jumlah tertentu berguna untuk memperpanjang daya tahan bahan selama masa penyimpanan. Berdasarkan hasil analisis kadar air simplisia serbuk kunyit didapatkan hasil dan rata-rata kadar air yang baik dan memenuhi standar yakni mempunyai kadar air kurang dari 10%.



Gambar 5.1 Analisis Kadar Air Simplisia Serbuk Kunyit

5.4 Ekstraksi Kunyit

Pada proses ekstraksi, metode ekstraksi yang digunakan adalah ultrasonik. Menurut Handayani dkk., (2016) metode ekstraksi ultrasonik menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz. Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive*, sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi. Salah satu kelebihan metode ekstraksi ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi, dibandingkan dengan ekstraksi termal atau ekstraksi konvensional, metode ultrasonik ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar. Ultrasonik juga dapat menurunkan suhu operasi pada ekstrak yang tidak tahan panas, sehingga cocok untuk diterapkan pada ekstraksi senyawa bioaktif tidak tahan panas.

Ultrasonik dilakukan menggunakan pelarut etanol 96% yang telah dilakukan redistilasi dengan perbandingan 1:20. Simplisia serbuk kunyit 25 gram dilarutkan dalam 500 mL etanol 96% kemudian ekstraksi menggunakan ultrasonik dengan tiga tahap dengan tujuan agar simplisia terekstraksi secara sempurna. Penggunaan pelarut etanol pada proses ekstraksi ini karena etanol tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel bakteri, selain itu berfungsi memperbaiki stabilitas zat aktif yang terlarut serta membuat zat aktif ekstrak kunyit yang tersari menjadi lebih banyak (Sari dkk., 2013). Serta menurut Setyowati & Suryani (2013) kurkuminoid akan lebih maksimal proses ekstraksinya jika dilarutkan dalam pelarut organik misalnya etanol. Komponen yang terekstraksi dalam etanol dapat dipisahkan dari pelarut etanol dengan

menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 90 rpm, sehingga kerusakan komponen kurkuminoid dapat dicegah.

Setelah evaporasi, didapatkan ekstrak berair dengan warna kuning kecoklatan serta bau khas kunyit, kemudian dilakukan pemanasan dengan oven selama 72 jam dengan suhu 40°C untuk menguapkan pelarut serta sisa air yang masih tersisa. Jumlah total berat ekstrak yang didapatkan adalah 6.0066 gram, sehingga rendemen yang didapatkan sebesar 24,026%.



Gambar 5.2 Ekstrak Kunyit Berwarna Kuning Kecoklatan

5.5 Identifikasi KLT Ekstrak Kunyit

Identifikasi fitokimia dilakukan untuk membuktikan adanya senyawa fenolik pada ekstrak kunyit. Identifikasi yang dilakukan yaitu uji senyawa fenolik dengan menggunakan metode KLT.

Pada penelitian ini KLT berfungsi untuk mengetahui kandungan kurkuminoid sebagai komponen utama yang menentukan mutu kunyit (Latief, 2012). Menurut Srinivasan (1953), Kurkuminoid merupakan campuran analog antara kurkumin, desmetoksi kurkumin, dan bis-desmetoksi kurkumin pada

kunyit, dimana kurkumin merupakan komponen yang paling dominan. Pada uji senyawa fenolik menggunakan metode KLT menghasilkan noda kuning yang menunjukkan adanya kandungan kurkuminoid pada ekstrak kunyit yang akan digunakan. Deteksi senyawa yang digunakan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan detektor UV di bawah sinar UV 254 nm sehingga bercak noda akan tampak jelas. Metode ini dilakukan dengan cara menotolkan ekstrak kunyit pada plat silika gel F254. Maksud angka 254 adalah plat akan menampakkan noda atau bercak pada saat disinari dengan sinar UV 254 nm, dan jika disinari dengan sinar UV 366 nm, maka plat akan nampak gelap dan noda pun akan tampak gelap juga. Silika gel GF254 artinya silika gel yang terdapat pada plat KLT yaitu gypsum dengan fluoresensi pada panjang gelombang (λ) 254 nm karena adanya kromofornya dan bercak atau noda akan tampak berwarna gelap sehingga dapat dihitung jarak noda untuk menghitung Rf.

Kemudian plat dimasukkan dalam *Chamber* yang telah berisi eluen. Eluen yang digunakan pada proses ini menggunakan n-butanol : asam asetat : air (9:2:6) (Rohyami, 2007). Noda-noda yang terbentuk pada plat kemudian dilakukan pengamatan menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan digunakan FeCl₃ 1% sebagai penampak noda untuk meyakinkan hasil noda kuning pada plat. Hasil nilai Rf pada uji senyawa fenolik menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ini yaitu sebesar 0,875.



Gambar 5.3 Identifikasi Fitokimia Ekstrak Kunyit Uji Senyawa Fenolik Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

5.6 Uji Mikrobiologi

Setelah dilakukan identifikasi fitokimia ekstrak kunyit melalui uji flavonoid dengan menggunakan metode KLT, kemudian dilakukan uji mikrobiologi. Pada uji mikrobiologi didapatkan 7 variasi perlakuan yang akan diujikan yaitu 100%:0%, 75%:25%, 50%:50%, 25%:75%, 0%:100%, dan kontrol positif serta kontrol negatif. Pada saat melakukan uji mikrobiologi terdapat beberapa langkah yang harus dilakukan yang meliputi sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, pembuatan konsentrasi, pembuatan kontrol positif dan kontrol negatif, pembiakan bakteri, pembuatan suspensi bakteri, dan uji aktivitas antibakteri.

Langkah pertama yang dilakukan yaitu sterilisasi alat dan bahan. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan tujuan alat dan bahan yang akan digunakan terbebas dari kontaminasi sehingga tidak mempengaruhi pada saat uji aktivitas antibakteri. Sterilisasi merupakan bagian yang sangat penting atau merupakan keharusan, baik pada alat maupun media. Hal ini penting karena jika

alat atau media tidak steril, kita akan sulit menentukan isolat kuman berasal dari spesimen yang diperiksa atau kontaminan (Rachmawati & Triyana, 2008).

Sterilisasi Alat dan bahan dilakukan dengan alat-alat gelas, cawan petri, ose yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan, selanjutnya dibungkus dengan aluminium foil dan disterilkan dengan oven pada suhu 160°C selama 2 jam. Bahan-bahan yang akan digunakan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Langkah kedua yaitu pembuatan media. Media yang digunakan *Mueller-Hinton Agar* (MHA). Media agar ini dipilih karena direkomendasikan oleh FDA dan WHO untuk tes antibakteri terutama bakteri aerob dan *facultative anaerobic bacteria* untuk makanan dan materi klinis. Media agar ini juga telah terbukti memberikan hasil yang baik dan reproduibel (*reproducibility*). Media agar ini mengandung sulfonamida, trimethoprim, dan inhibitor tetrasiklin yang rendah serta memberikan pertumbuhan pathogen yang memuaskan (Acumedia, 2004).

Pembuatan media dilakukan dengan MHA ditimbang sejumlah 7,6 gram dan dilarutkan dengan 250 mL aquades. Setelah itu dipanaskan hingga mendidih dan larutan berwarna menjadi bening. Kemudian dipipet ke dalam cawan petri dan dilakukan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu disimpan pada lemari pendingin.

Langkah ketiga yaitu pembuatan konsentrasi. Pembuatan konsentrasi dilakukan pada masing-masing bahan yaitu ekstrak kunyit dan kitosan dengan konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, 100%. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades steril dengan tujuan agar ekstrak dapat terdistribusi dengan

steril dan bersifat netral, sedangkan surfaktan yang digunakan pada penelitian ini yaitu tween 80 karena dapat berfungsi sebagai peningkat kelarutan dan agen pembersih. Tween 80 tergolong surfaktan non-ionik yang memiliki toksisitas rendah sehingga banyak digunakan dalam industri makanan, kosmetik dan formula obat oral. Tween 80 digunakan sebagai agen peningkat kelarutan karena memiliki nilai HLB 15, dimana persyaratan sebagai agen pensolubilisasi adalah memiliki nilai HLB ≥ 15 (Rowe *et al.*, 2009).

Pembuatan konsentrasi 0% b/v didapatkan dengan cara aquades steril sebanyak 2 mL dengan ditambahkan 50 μ L tween 80 tanpa pemberian ekstrak kunyit atau kitosan. Konsentrasi 25% b/v didapatkan dengan cara ditimbang 0,5 g ekstrak kunyit atau kitosan dan diencerkan dalam aquades steril sebanyak 2 mL dengan ditambahkan 50 μ L tween 80. Konsentrasi 50% b/v didapatkan dengan cara ditimbang 1 g ekstrak kunyit atau kitosan dan diencerkan dalam aquades steril sebanyak 2 mL dengan ditambahkan 50 μ L tween 80. Konsentrasi 75% b/v didapatkan dengan cara ditimbang 1,5 g ekstrak kunyit atau kitosan dan diencerkan dalam aquades steril sebanyak 2 mL dengan ditambahkan 50 μ L tween 80. Konsentrasi 100% b/v didapatkan dengan cara ditimbang 2 g ekstrak kunyit atau kitosan dan diencerkan dalam aquades steril sebanyak 2 mL dengan ditambahkan 50 μ L tween 80. Kemudian masing-masing konsentrasi di saring dengan Millipore dan dimasukkan pada tabung reaksi steril. Penggunaan Millipore pada pembuatan konsentrasi ini berfungsi sebagai sterilisasi selama proses pembuatan konsentrasi. Millipore digunakan dengan dipasang pada ujung alat suntik. Langkah ini dikerjakan didalam LAF.

Langkah keempat yaitu pembuatan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif berfungsi sebagai pembanding apakah kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit dapat memberikan daya hambat terhadap *E. coli* seperti pada kloramfenikol atau tidak, sedangkan fungsi kontrol negatif adalah untuk mengetahui apakah aquades steril yang digunakan mengandung efek antibakteri atau tidak. Pada penelitian ini digunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan salah satu antibiotika yang mempunyai spektrum kerja yang luas. Antibiotika ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif dengan cara menghambat sintesa protein (Handayani dkk., 2009).

Kontrol positif dilakukan dengan kloramfenikol sebesar 1,2 mg yang diencerkan dalam aquades steril sebanyak 40 mL. Sedangkan untuk kontrol negatif pada penelitian ini diberikan aquades steril tanpa perlakuan.

Langkah kelima yaitu pembiakan bakteri. Pembiakan bakteri dilakukan pada media *Mc. Conkey*. *Mc. Conkey* merupakan media selektif untuk isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif terutama bakteri yang berasal dari tinja dan urin. *E. coli* merupakan bakteri yang banyak ditemukan dari tinja khususnya penderita diare (Ferdiaz, 1993), sehingga media *Mc. Conkey* sangat cocok digunakan sebagai media pembiakan bakteri *E. coli* pada penelitian ini.

Pembiakan bakteri dilakukan dengan bakteri diambil 1-2 ose digoreskan pada media *Mc. Conkey*, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sampai membentuk koloni.

Langkah keenam yaitu pembuatan suspensi bakteri. Pembuatan suspensi bakteri digunakan media BHI cair. Media BHI adalah media penyubur yang berguna untuk pertumbuhan berbagai macam bakteri. bahan utama terdiri dari beberapa jaringan hewan ditambah pepton, buffer posfat, dan sedikit dekstrosa. Penambahan karbohidrat memungkinkan bakteri dapat menggunakan langsung sebagai sumber energi (Ajindo, 2011).

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil 1-2 ose bakteri dari media *Mc. Conkey* kemudian ditanam pada 2 mL media BHI cair kemudian diinkubasi selama ± 17 jam pada suhu 37°C pada tabung reaksi sampai dengan mencapai standarisasi *0,5 Mc. Farland* (10^8 CFU/mL).

Langkah ketujuh yaitu uji aktivitas antibakteri. Suspensi bakteri yang telah diinkubasi ± 17 jam pada suhu 37°C pada tabung reaksi dioleskan dan diratakan pada media *Mueller-Hinton Agar* (MHA). Kemudian pada masing-masing cawan petri dilubangi menggunakan bor gabus dan ditetesi dengan seluruh sampel serta kontrol positif dan kontrol negatif. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C , setelah itu diamati dan diukur zona hambat pertumbuhan bakteri menggunakan jangka sorong.



Gambar 5.4 Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *E. coli* oleh Kitosan 0%:Ekstrak Kunyit 100%

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dari berbagai variasi konsentrasi 0%:100%, 25%:75%, 50%:50%, 75%:25%, dan 100%:0% b/v antara kitosan dan ekstrak kunyit, hanya konsentrasi kitosan 0%; ekstrak kunyit 100% yang dapat memberikan daya hambat dengan rata-rata diameter 0,4375 cm. Hasil pada penelitian ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat berwarna bening kekuningan di sekitar lubang sumuran (Gambar 5.3). Hal ini disebabkan karena kunyit mengandung kurkuminoid sehingga dapat menimbulkan zona hambat berwarna bening kekuningan.

Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri *E. coli*

Perlakuan	Replikasi			
	I	II	III	IV
Kitosan 100% Ekstrak kunyit 0%	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm
Kitosan 75% Ekstrak kunyit 25%	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm
Kitosan 50% Ekstrak kunyit 50%	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm
Kitosan 25% Ekstrak kunyit 75%	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm
Kitosan 0% Ekstrak kunyit 100%	0,375 cm	0,500 cm	0,425 cm	0,450 cm
Kontrol Positif	1,075 cm	1,140 cm	1,100 cm	1,200 cm
Kontrol Negatif	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa hanya konsentrasi kitosan 0%: ekstrak kunyit 100% yang dapat memberikan hasil zona hambat. Hal ini dimungkinkan karena jenis kitosan yang digunakan dan atau rendahnya konsentrasi ekstrak kunyit.

Menurut Janesh & Alonso (2003) mengelompokkan kitosan berdasarkan BM dan kelarutannya sebagai berikut :

- Kitosan larut asam dengan BM 800.000 sampai 1.000.000 Dalton
- Kitosan mikrokristalin (larut air) dengan BM sekitar 150.000 Dalton
- Kitosan nanopartikel dengan BM 23.000 Dalton sampai 70.000 Dalton, dimana dapat berfungsi sebagai imunomodulator.

Kitosan yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari CV. Amani Malang. Produk kitosan yang didapatkan berupa serbuk putih kekuningan. Pada penelitian ini kitosan dilarutkan dalam aquades steril namun kitosan tidak larut secara sempurna. Penambahan surfaktan berupa tween 80 dilakukan dengan tujuan kitosan dapat terlarut sempurna dalam aquades steril, namun hasil yang didapatkan kitosan masih tidak larut secara sempurna. Hal ini dimungkinkan kitosan yang digunakan merupakan kitosan larut asam dengan BM 800.00 sampai 1.000.000 Dalton atau Kitosan nanopartikel dengan BM 23.000 Dalton sampai 70.000 Dalton sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dimiliki dari kitosan tersebut.

Menurut Madigan *et al.*, (2009) *E.coli* 0157:H7 memiliki ciri-ciri kondisi lingkungan yang berbeda dengan *E.coli* lainnya, yaitu dapat bertahan hidup dalam kondisi asam. Hal ini tidak terjadi pada *E.coli* lain yang tidak dapat bertahan hidup dalam kondisi pH asam. Oleh karena itu, dalam penelitian ini seharusnya digunakan pelarut asam untuk dapat melarutkan kitosan. Namun, akibat kurangnya informasi terkait jenis *E.coli* yang digunakan sebelumnya, maka dalam penelitian ini tetap digunakan aquades steril sebagai pelarut diharapkan tidak mematikan *E.coli*, sehingga matinya *E.coli* benar-benar berasal dari aktivitas antibakteri dari kitosan dan kurkumin.

Menurut Krishnamurty *et al.*, (1976) kandungan kurkumin dari rimpang kunyit kering bervariasi antara 1,8 - 5,4 persen tergantung dari jenis kunyit, pelarut, dan cara ekstrasinya. Dengan variasi kandungan kurkumin yang sedikit dari kunyit tersebut sehingga dapat dimungkinkan jika ekstrak kunyit pada konsentrasi rendah tidak dapat memberikan aktivitas antibakteri.

5.7 Analisis Data

Analisa data pada penelitian ini diolah dengan metode uji statistik, yaitu menggunakan uji *Independent t-test*. Uji statistik menggunakan uji *Independent t-test* ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan dengan cara membandingkan diameter zona hambat koloni bakteri *E. coli* antara kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit pada konsentrasi 0%;100% dengan kontrol positif. Namun, Sebelum dilakukan uji *Independent t-test* perlu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas.

5.7.1 Uji Normalitas

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas

Sampel	Sig. <i>Shapiro-Wilk</i>	Keterangan
Kitosan 0% Ekstrak Kunyit 100%	0,995	Normal
Kontrol Positif	0,783	Normal

Hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Hal ini dapat dilihat dari nilai uji *Shapiro-Wilk* sig sebesar $0,995 > 0,05$ untuk kitosan dan ekstrak kunyit pada konsentrasi 0%:100% dan sebesar $0,783 > 0,05$ untuk kontrol positif, sehingga data dinyatakan normal.

5.7.2 Uji Homogenitas

Tabel 5.4 Hasil Uji Homogenitas

Sampel	Sig. <i>Levene's test</i>	Keterangan
Kitosan 0%	0,855	Homogen
Ekstrak Kunyit 100%		
Kontrol Positif		

Hasil uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Nilai signifikansi uji *Levene* adalah sebesar 0,855. Karena nilai sig > 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan varian antar kelompok sampel yang diteliti atau varian antar kelompok sampel adalah sama.

5.7.3 Uji *Independent t-test*

Tabel 5.5 Hasil uji *Independent t-test*

Sampel	Sig. <i>Independent t-test</i>	Keterangan
Kitosan 0%	0,000	Berbeda Signifikan
Ekstrak Kunyit 100%		
Kontrol Positif		

Hasil analisa data menunjukkan bahwa nilai signifikansi uji *Independent t-test* adalah sebesar 0,000. H_0 dari penelitian ini adalah tidak adanya perbedaan signifikan diameter zona hambat antara kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit pada konsentrasi 0%;100% dengan kontrol positif terhadap daya hambat bakteri *E. coli* pada metode sumuran. Sedangkan H_1 dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan signifikan diameter zona hambat antara kombinasi kitosan dan ekstrak

kunyit pada konsentrasi 0%;100% dengan kontrol positif terhadap daya hambat bakteri *E. coli* pada metode sumuran (Rohman, 2014).

Berdasarkan hasil analisa Uji *Independent t-test* menunjukkan nilai signifikan sebesar $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa terdapat perbedaan signifikan diameter zona hambat antara kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit pada konsentrasi 0%;100% dengan kontrol positif terhadap daya hambat bakteri *E. coli* pada metode sumuran. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat antara kombinasi kitosan dan ekstrak kunyit pada konsentrasi 0%;100% dengan kontrol positif terhadap bakteri *E. coli* memiliki efektifitas yang berbeda.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Hasil dari penelitian menunjukkan kombinasi antara kitosan dan ekstrak kunyit tidak dapat memberikan peningkatan daya hambat terhadap *E. coli* secara *in Vitro*. Hal ini dimungkinkan karena kitosan yang digunakan tidak larut sempurna dengan aquades steril dan atau rendahnya konsentrasi ekstrak kunyit.
2. Konsentrasi kombinasi kitosan 0%: ekstrak kunyit 100% merupakan konsentrasi yang dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan nilai rata-rata daya hambat sebesar 0,4375 cm.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan pemilihan pelarut yang tepat berdasarkan BM kitosan agar didapatkan hasil penelitian yang maksimal.
2. Perlu dilakukan penelitian lain lebih banyak lagi mengenai kombinasi dengan senyawa lain yng berfungsi sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aburjai, T. 2007. *Experimental Validation of Ethnopharmacological Data Obtained Via ICF and UV for Some Antimicrobial Jordanian Medicinal Plants and Chemical Evaluation of the Active Volatile Oils*. Jordan: Faculty of Pharmacy University of Jordan.
- Acumedia. 2004. Mueller Hinton Agar (7101). *Neogen Corporation*.
- Aid I.A.Q. 2007. *Al Tafsir al muyassar*. Riyadh: Maktabah al Abikan.
- Ajindo. 2011. *Kuliah Media*. <http://ajindo-mamaaji.blogspot.ru/2011/01/kuliah-media.html>. Diakses 15 November 2017.
- Al-Mahalli, Imam J., & As-Suyuti. 2007. *Tafsir Jalalain*. Terj. Bahrnun. Abubakar. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Alamsyah, A. 2000. *Modifikasi pembuatan khitosan larut air* [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Anggraini, R., Salim, M., & Mardiah, E. 2013. Uji Bakteri *Escherichia coli* yang Resisten Terhadap Antibiotik pada Ikan Kapas-Kapas di Sungai Batang Arau Padang. *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Andalas*. Volume 2, Nomor 2: 17-21.
- Arisman. 2009. *Keracunan Makanan: Buku Ajar Ilmu Gizi*. Jakarta: EGC.
- Aswarita, R. 2013. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Daya Hambat *Escherichia coli* secara *in Vitro*. *Jurnal EduBio Tropika*. Volume 1, Nomor 2: 61-120.
- Ayoediji, A.A., Attama, A., & Momoh M. 2011. Evaluation of the antimicrobial activities of crude extract of *Cryptolepis sanguinolenta* and *Crateva adansonii* leaves and their interactions. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Volume 10: 85-89.
- Basuki, H.N. 2008. *Perhitungan Besar Sampel*. <http://www.elib.fk.uwks.ac.id>. Diakses 2 Desember 2016.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., & Morse, S.A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Edisi 23*. Terjemahan Huriwati Hartanto dkk. Jakarta: EGC.

- Campbell, N.A., Reece, J.B., & Mitchell, L.G. 2002. *Biologi Jilid 1 Edisi Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Chen, Y.M., Chung Y.C., Wang L.W., Chen K.T., & Li S.Y. 2002. Antibacterial Properties of Chitosan in Waterborne Pathogen. *J. Environ Sci Health*. Volume 37: 1379-1390.
- Cheng C., & Li Y. 2000. An Aspergillus Chitosanase with Potential for Large-Scale Preparation of Chitosan Oligosaccharides. *Biotechnol*. Volume 32: 197-203.
- Chung Y.C., *et al.* 2004. Relationship Between Antibacterial Activity of Chitosan and Surface Characteristics of Cell Wall. *Acta Pharmacol Sin*. Volume 7: 932-936.
- Dalimartha, S. 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 6*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen kesehatan RI.
- Dirjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dirjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dzen, S.M., Roekistiningsih, Santoso, S., & Winarsih, S. 2010. *Bakteriologi Medik*. Surabaya: Putra Media Nusantara.
- Feng, Z.J., & Zheng, L.Y. 2003. Study on Antimicrobial Activity of Chitosan With Different Molecular Weights. *Journal Carbohydrate Polimers*. Volume 54, Nomor 4: 527-530.
- Ferdiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Perkasa.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri, Jilid 1*. Jakarta: UI Press.
- Handayani, D., Afero E., & Rustini. 2009. Isolasi Senyawa Kimia Utama dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Spon Laut *Petrosia nigrans*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. Volume 14, nomor 1: 5-11.
- Handayani, H., Feronika H.S., & Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 4, Nomor 1.

- Hargono, A., & Sumantri, I. 2008. Pembuatan Kitosan dari Limbah Cangkang Udang serta Aplikasinya dalam Mereduksi Kolesterol Lemak Kambing. *J Reaktor*. Volume 12, Nomor 1: 53-57.
- Hidayati, E., Juli, N., & Marwani, E. 2002. *Isolasi Enterobacteriaceae Patogen dari Makanan Berbumbu dan Tidak Berbumbu Kunyit (Curcuma longa L.) Serta Uji Pengaruh Ekstrak Kunyit (Curcuma longa L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Yang Diisolasi*. Bandung: Departemen Biologi FMIPA ITB.
- Huhtanen, C.N. 1980. Inhibition of Clostridium botulinum by Spice Extracts and Aliphatic Alcohols. *Journal of Food Protect*. Volume 43, Nomor 3: 195.
- Istiqomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus) [Skripsi]*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Janesh K.A., & Alonso M.J. 2003. Depolymerized Chitosan Nanoparticles for Protein Delivery. *J appl Pol Sci*. Volume 88: 2769-2776.
- Jawetz, Z., Melnick, & Adelberg's. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXII*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, Z., Melnick, & Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Buku 2)*. Terjemahan N. Widorini. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Juang S.R., Wu C.F., & Tseng L.R. 2002. *Use of chemically modified chitosan beads for sorption and enzyme immobilization*. Taiwan: Advances in Environmental Research.
- Karsinah, M. Lucky H., Suharto., & W. Mardiasuti. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Tangerang: Binarupa Aksara.
- Katsir, I. 2004. *Lubaabut Tafsir Min Ibnu Katsiir*. Kairo: Mu-assasah Daar al-Hilaal Kairo.
- Krishnamurty, N., et al. 1976. Oil and Oleoresin of Turmeric. *Tropical Science*. Volume 18, Nomor 1.
- Kuldiloke, J. 2002. *Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices*. Berlin: Dissertationder Technischen University of Berlin Jerman.
- Kumalasari, H. 2012. *Validasi Metode Pengukuran Kadar Air Bubuk Perisa Menggunakan Moisture Analyzer Halogen HB43-s sebagai Alternatif Metode Oven dan Karl Fischer [skripsi]* Bogor: IPB Press.

- Kumar, A., Jyotsna D., & Anup S. 2011. *A Review On Spice of Life Curcuma Longa (Turmeric)*. India: Department of Pharmacognosy Pharmacy Collage Itaura Chandesar Azamgarh Uttar Pradesh.
- Kurnia, R. 2010. *Antibakteri Tanaman Rempah*. <https://lordbroken.wordpress.com/2010/05/24/antibakteri-tanaman-rempah/>. Diakses 1 Februari 2017.
- Latief, A. 2012. *Obat Tradisional*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lestari, S., & Maggy, S. 2000. *Bioteknologi Hasil Laut*. Bogor: Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan Institut Pertanian Bogor.
- Madigan, M.T., et al. 2009. *Brock Biology of Microorganisms 12 Ed*. San Fransisco: Pearson Education, Inc.
- McClements D.J. 1995. Advances in The Application of Ultrasound in Food. *Analysis and rocessing, Trends Food Sci, Techn*. Volume 6: 293-299.
- Mikusanti, N., & Marfinda. 2011. Aktivitas campuran ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) terhadap *Bacillus cereus*. *Jurnal Penelitian Sains*. Volume 14: 141-152.
- Mitterhuemer, S., Krebs S., Klanner A., Wolf E., & Blum H. 2010. *Escherichia coli* Infection Induce Distinct Local and Systemic Transcriptome Response in the Mamary Gland. *BMC Journal*. Volume 17, Nomor 2: 126-136.
- Mohanty, A., et al. 2010. Phisiochemical and Antimicrobial Study of polyherbal. *Pharmacieglobal*. Volume 4, Nomor 4: 1-3.
- Mun'im A., & Hanani E. 2011. *Fitoterapi Dasar*. Jakarta: PT Dian Rakyat.
- Muzzarelli R.A.A. 1977. *Depolymerization of chitins and chitosans with hemicellulase, lysozyme, papain and lipase* In: Muzzarelli RAA, GPM, Eds. *Chitin Handbook*. Grottamore: European Chitin Society.
- Naidu, A.S., & P.M., Davidson. 2000. *Phyto-phenols*. New York: CRC Press.
- Noviana, H. 2004. Pola Kepekaan Antibiotika *Escherichia coli* yang diisolasi dari Berbagai Spesimen Klinis. *Jurnal Kedokteran Trisakti*. Volume 23, Nomor 4: 122-126.
- Pati, U.S., & Kurade N.P. 2011. Antibacterial Screening Methods For Evaluation of Natural Product. *Indian Veterinary Research Institute*. 287-298.

- Pratiwi, S. 2009. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Purves, B., & Sadava, D. 2003. *Life The Science of Biology 7th Edition*. New York: Sinauer Associates Inc.
- Purwantiningsih. 1992. *Isolasi kitin dan komposisi senyawa kimia limbah udang windu (Penaeus monodon)* [tesis]. Bandung: Program Pascasarjana ITB.
- Ramisz, A.B., Anna W.P., Bogumila P., Alojzy R., & Lukasz L. 2005. Antibacterial and Antifungal Activity of Chitosan. *ISAH*. Volume 2: 406-408.
- Rachmawati, F.J., & Triyana, S.Y. 2008. *Perbandingan Angka Kuman pada Cuci Tangan dengan Beberapa Bahan Sebagai Standarisasi Kerja di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia (UII).
- Rashidova, S.Sh., et al. 2008. *Research of Antibacterial Properties of Chitosan and Its Derivates in Relation to Various Microorganism*. Rusia: 2nd International IUPAC conference.
- Rohman, A. 2014. *Statistika dan Kemometrika Dasar Dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rohyami, Y. 2007. *Identifikasi Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Boerl) Menggunakan Spektrofotometer UV Vis dan FT-IR*. Jakarta: PDM DIKTI.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., & Queen, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th Ed*. London: The Pharmaceutical Press.
- Said, A., 2001. *Khasiat & Manfaat Kunyit*. Bandung: PT. Sinar Wadja Lestari.
- Sari, D.L.N., Bambang C., & Andri C.K. 2013. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Kurkuminoid dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Chem Info*. Volume 1, Nomor 1:101-107.
- Setyowati, A., & Suryani, C.L. 2013. Peningkatan Kadar Kurkuminoid dan Aktivitas Antioksidan Minuman Instan Temulawak dan Kunyit. *AGRITECH*. Volume 33, Nomor 14: 363-370.
- Shihab, M.Q. 2003. *Tafsir al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.

- Siahaan, M. 2010. *Isolasi Senyawa Diterpenoida Dari Ekstrak Metanol Daun Tumbuhan Merambung (Vernonia arborea Buch-Ham.)* [Skripsi]. Medan: STIKES Mutiara Indonesia.
- Srinivasan, K.R. 1953. A Chromatographic Study of the Curcuminoids in *Curcuma longa* L. *J. Pharm.Pharmacol.* Volume 5: 448-457.
- Sudurshan N.R., D.G. Hoover, & G.Knorr. 1992. Antibacterial Action of Chitosan. *Food Biotechnology.* Volume 6: 257-272.
- Sulistijowati, R., Lukman M., & Kartika W. 2014. Aktivitas Antibakteri Kitosan Kulit Udang *Vaname (Litopenaeus vannamei)* Terhadap Bakteri Kontaminan Bakso Ikan Tuna (*Thunnus* Sp.). *Jurnal Jurusan Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Negeri Gorontalo.* 1-7.
- Sulistyoningsih, H. 2011. *Gizi Untuk Kesehatan Ibu Dan Anak.* Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sumiati. 2004. *Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Kunyit (Curcuma domestica Val).* http://www.petanihebat.com/2013/03/klasifikasi-dan-morfologi-tanaman_15.html. Diakses 2 Desember 2016.
- Susanti, A.D., Dwi A., Gita G.P., & Yosephin B.G. 2012. *Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul dari Bekatul Varietas Ketan (Oryza sativa Gelatinosa).* Surakarta: Simposium Nasional RAPI FT-UMS.
- Suslick, K.S. 1988. *Ultrasounds: Its Chemical, Physical and Biological Effects.* New York: VHC Publishers.
- Syukur, C., & Hernani. 2002. *Budi Daya Tanaman Obat Komersial.* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Tiaraswara, R.A. 2015. *Optimalisasi Formulasi Hard Candy Ekstrak Daun Mulberry (Morus sp.) Dengan Menggunakan Design Expert Metode D-Optimal.* Program Studi Teknologi Pangan [Artikel]. Bandung: Fakultas Teknik Universitas Pasundan.
- Tilaar, M. 2002. *Budi Daya Secara Organik Tanaman Obat Rimpang.* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Tjay, T.H., & Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya.* Jakarta: PT Elex Media Komputindo.

Triharso. 2016. *Kurkumin (Kunyit dan Temulawak) Untuk Menekan Sel Kanker*. <https://bisakimia.com/2016/04/24/kurkumin-kunyit-dan-temulawak-untuk-menekan-sel-kanker/>. Diakses 1 Februari 2017.

USDA (United States Department of Agriculture). 2013. Natural Resources Conservation Service. <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CULO> Diakses 1 Februari 2017.

Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *Flora "Untuk Sekolah di Indonesia"*. Cetakan XII (Diterjemahkan). Jakarta: PT. Pradnya Paramita.



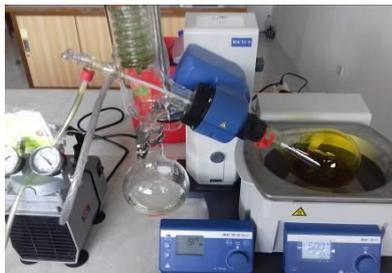
LAMPIRAN

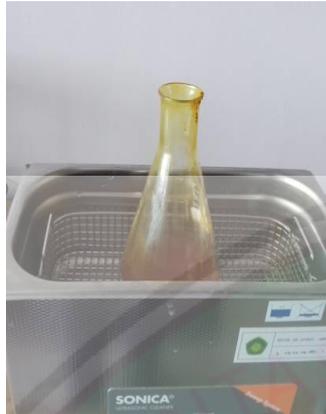
Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian

L.1.1 Uji Kadar Air



L.1.2 Ekstraksi Kunyit





L.1.3 Identifikasi KLT Ekstrak Kunyit



L.1.4 Uji Mikrobiologi

L.1.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan



L.1.4.2 Pembuatan Media



L.1.4.3 Pembuatan Konsentrasi





L.1.4.4 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif



L.1.4.5 Pemiakan Bakteri



L.1.4.6 Pembuatan Suspensi Bakteri



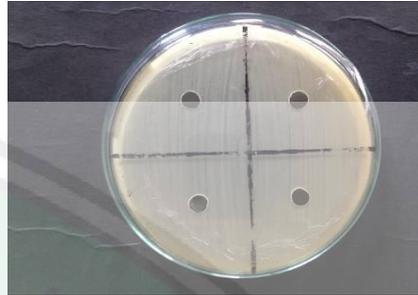
L.1.4.7 Uji Aktivitas Antibakteri



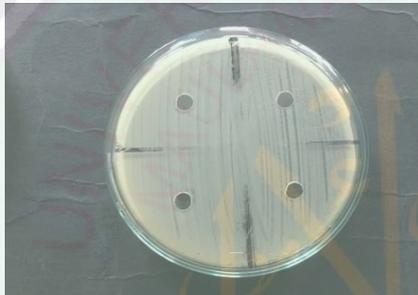
L.1.4.8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri



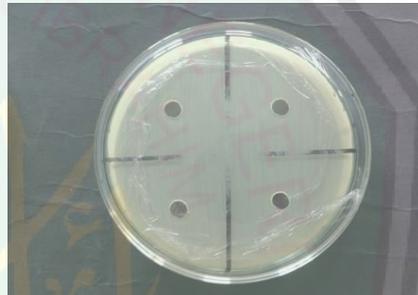
Kontrol Positif



Kontrol Negatif



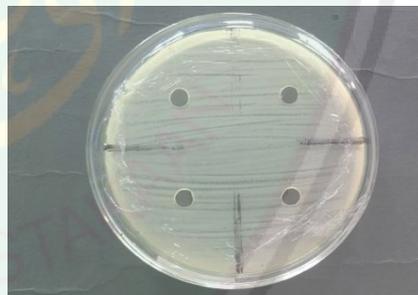
Kitosan 100%; ekstrak kunyit 0%



Kitosan 75%; ekstrak kunyit 25%



Kitosan 50%; ekstrak kunyit 50%



Kitosan 25%; ekstrak kunyit 75%



Kitosan 0%; ekstrak kunyit 100%

Lampiran 2. Analisa Data

L.2.1 Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Positif	.201	4	.	.961	4	.783
Kunyit	.155	4	.	.998	4	.995

a. Lilliefors Significance Correction

L.2.2 Uji Homogenitas dan *Independent t-test*

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Diameter Zona Hambat	K Pos	4	1.12875	.054524	.027262
	Kunyit 100%	4	.43750	.052042	.026021

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Diameter Zona Hambat	Equal variances assumed	.037	.855	18.342	6	.000	.69125	.037687	.599033	.783467
	Equal variances not assumed			18.342	5.987	.000	.69125	.037687	.598985	.783515

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Perhitungan Pembuatan Konsentrasi

Konsentrasi 0%

$$\frac{0 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2 \text{ mL} = 0 \text{ g}$$

Konsentrasi 25%

$$\frac{25 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2 \text{ mL} = 0,5 \text{ g}$$

Konsentrasi 50%

$$\frac{50 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2 \text{ mL} = 1 \text{ g}$$

Konsentrasi 75%

$$\frac{75 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2 \text{ mL} = 1,5 \text{ g}$$

Konsentrasi 100%

$$\frac{100 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2 \text{ mL} = 2 \text{ g}$$

L.3.2 Perhitungan Rendemen

Berat simplisia *C. longa* = 25 gram

Berat ekstrak kental *C. longa* = 6,0066 gram

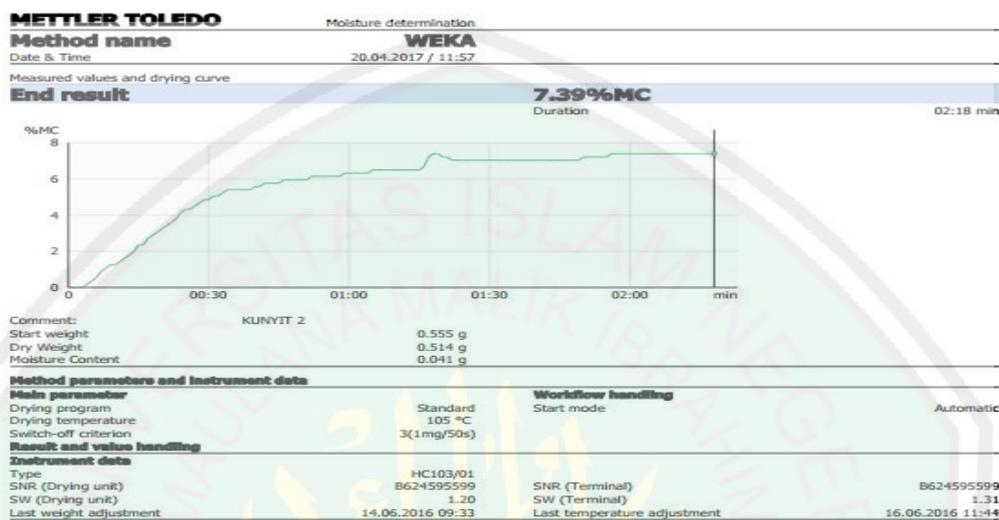
$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% = \frac{6,0066 \text{ g}}{25 \text{ g}} \times 100\% = 24,026\%$$

L.3.3 Perhitungan Nilai Rf

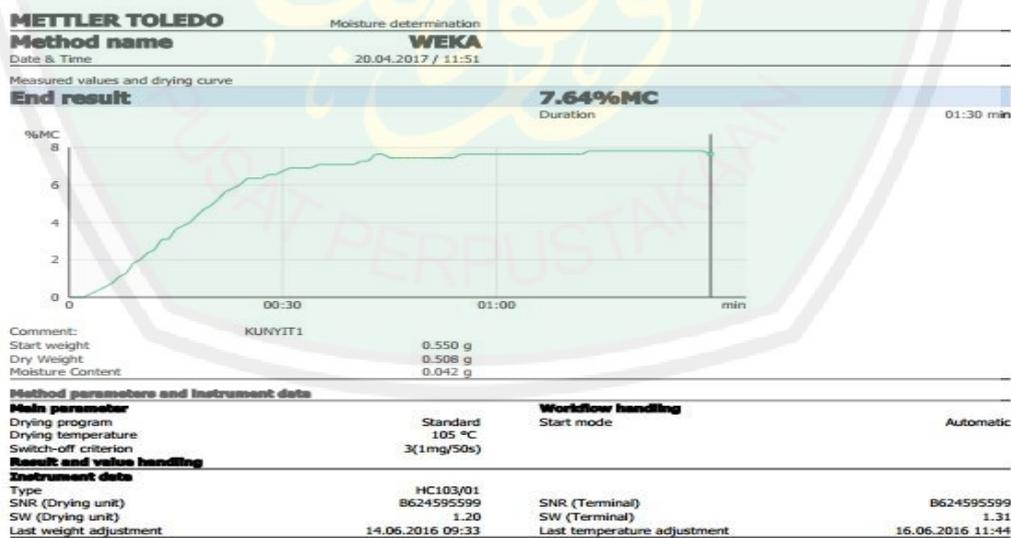
$$R_f = \frac{\text{jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}} = \frac{n}{8} = \frac{7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,875 \text{ cm}$$

Lampiran 4. Hasil Uji Kadar Air

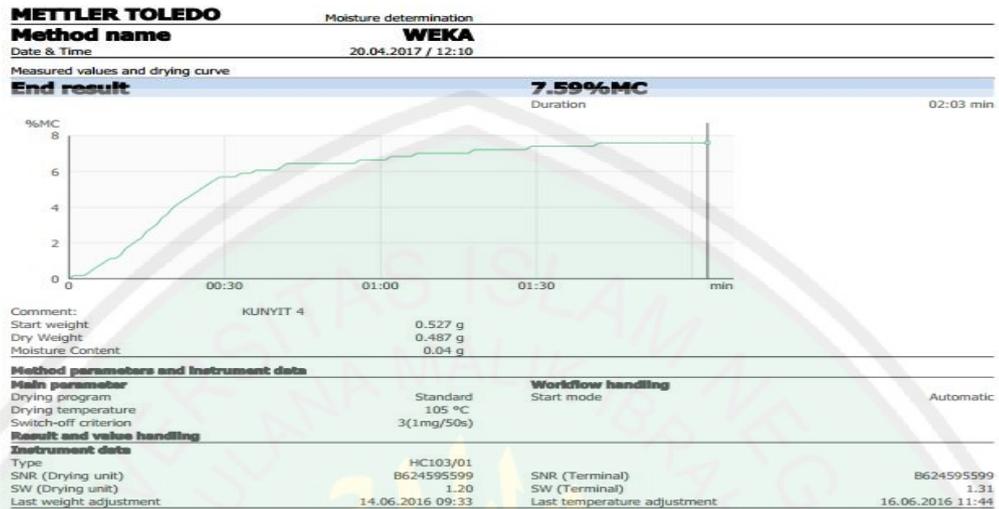
L.4.1 Uji Kadar Air Pertama



L.4.2 Uji Kadar Air Kedua



L.4.3 Uji Kadar Air Ketiga



Lampiran 5. Sertifikat Analisis Kitosan



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product name	Chitosan	Country of Origin	China
Batch Size	1000KG	Batch Number	20160102
Manufacture Date	Jan 02, 2016	Expiry Date	Jan 01, 2018
Items	Specification	Results	
Description	Yellowish white powder	Yellowish white powder	
Viscosity (1% w/ 25 C)	50-500cps	110cps	
DAC Degree	≥90%	92.5%	
Total Ash	≤1.0%	0.89%	
Insolubles	≤1%	0.36%	
Moisture	≤10.0%	8.5%	
Particle Size	95% Through 80 Mesh Sieve	Conforms	
Heavy Metals	≤10.0 ppm	<10ppm	
Arsenic	<1 ppm	< 5ppm	
Density	≥0.25 g/ml	0.302 g/ml	
Microbiological Control			
Total Plate Count	≤1000 cfu/g	<1000 cfu/g	
Yeast & Mold	≤100cfu/g	Conforms	
Salmonella	Negative	Negative	
E. Coli	Negative	Negative	
Storage	Cool & dry place. Do not freeze. Keep away from strong light and heat.		
Shelf	2 years when properly stored		

Conclusion: The product Conforms with above specification.

Analyst: Zhong Miancheng



Add: Rm02107, Block A, Epia Meridian Building, Gaoxin Rd, Hi-Tech Zone, X'nan, China
 Tel: +86-29-88764861 Fax: +86-29-88764861 Email: nstrail@yahoo.com
 Web: www.nstrail.com

Lampiran 6. Surat Determinasi Tanaman Kunyit



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396
KOTA BATU **65313**

Nomor : 074 / 101 / 102.7 / 2017
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Kunyit**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : FIKRI ALHIMSYAH
 NIM : 13670013
 Instansi : JURUSAN FARMASI
 UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman kunyit

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma longa</i> Linn.
Sinonim	: <i>Curcuma domestica</i> Val.. = <i>C. domestica</i> Rumph. = <i>C. longa</i> Auct. = <i>Amomum curcuma</i> Murs.

Nama Umum : Kakunye (Eggano), kunyet (Adoh), kuning (Gayo), kunyit (Alas), hunik (Batak), odil (Simalur), under (Nias), kunyit (Lampung), kunyit (Melayu), kunyir (Sunda), kunir (Jawa Tengah), temo koneng (Madura), kunit (Banjar), henda (Ngayu), kunyit (Olon Manyan), cahang (Dayak Panyambung), dio (Panihing), kalesiau (Kenya), kunyit (Tidung), kunyit (Sasak), huni (Bima), kaungi (Sumba Timur), kunyi (Sumba Barat), kewunyi (Sawu), koneh (Flores), kuma (Solor), kumeh (Alor), kunik (Roti), hunik kunir (Timor), uinida (Talaud), kuni (Sangir), alawaha (Gorontalo), kolalagu (Buol), pagidon (Toli-toli), kuni (Toraja), kunyi (Ujungpandang), kunyi (Selayar), unyi (Bugis), kuni (Mandar), kurlai (Leti), lulu malai (Babar), ulin (Tanimbar), tun (Kayi), unin (Ceram), kunin (Seram Timur), unin (Ambon), gurai (Halmanera).

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109a-110b-111b-112a -113b-116a -119b -120b-128b-129a-130b-132a.

2. Morfologi : Habitus semak, tinggi ±70 cm. Batang semu, tegak, bulat, membentuk rimpang, hijau kekuningan. Daun tunggal, lanset memanjang, helai daun tiga sampai delapan, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, panjang 20-40 cm, lebar 8-12.5 cm, pertulangan menyirip, hijau pucat. Bunga majemuk, berambut, bersisik, tangkai panjang 16-40 cm, mahkota panjang ±3 cm, lebar ±1.5 cm, kuning, kelopak silindris, bercangap tiga, tipis, ungu, pangkal daun pelindung putih, ungu. Akar serabut, coklat muda.

3. Nama Simplicia : Curcumae domesticae Rhizoma/ Rimpang Kunyit

4. Kandungan : Rimpang kunyit (100 gram) mengandung lemak 1-3%, karbohidrat 3%, protein 30%, pati 8%, vitamin C 45-55%, garam-garam mineral (zat besi, fosfor, dan kalsium), dan sisanya minyak atsiri (tumeron, zingiberon, seskuiterpena alkohol), kurkumin, desmetoksikurkumin, bidesmetoksikurkumin, zat pahit, minyak lemak, dan hars. Rimpang mengandung saponin, flavonoida dan polifenol, di samping minyak atsiri.

5. Penggunaan : Penelitian / Skripsi

6. Daftar Pustaka

- Anonim. 2006. *Serial Tanaman Obat "Kunyit"*. BPOM, Jakarta.
- Anonim. <http://www.tanamanobat.com/Kunyit>, diakses tanggal 9 Januari 2009.
- Syamsuhidayat, Sri sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 27 Maret 2017
 Kepala UPT Materia Medica Batu



 Dr. Husin R.M., Drs., Apt. M.Kes.
 NIP.196111021991031003