

1. ZINGIBERACEAE

2. MEDICINAL IR - Perpustakaan Universitas Airlangga



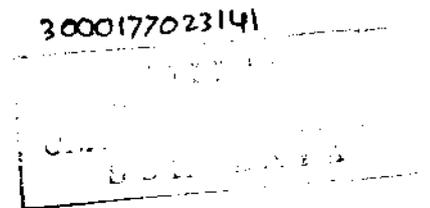
LAPORAN PENELITIAN  
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
TAHUN ANGGARAN 2000

KRS  
KK 2  
615.32439  
Eka  
u

## UJI ANTI HELICOBACTER PYLORI DARI EKSTRAK METANOL BEBERAPA RIMPANG TANAMAN SUKU ZINGIBERACEAE

Peneliti :

**Dra. WIWIED EKASARI, Apt.**  
**Drs. ABDUL RAHMAN, M.Si.**  
**Dra. SRI WINARSIH, M.Si.**



### LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga  
SK Rektor Nomor : 4934/J03/PG/2000  
Tanggal 13 Juni 2000  
Nomor urut : 14

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Desember 2000

# LEMBAGA PENELITIAN

- |  |                                       |  |
|--|---------------------------------------|--|
| 1. Puslit Pembangunan Regional         | 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719) |
| 2. Puslit Obat Tradisional             | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722)      | 10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi                 |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584) | 7. Puslit Olah Raga                   |  |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)   | 8. Puslit Bioenergi                   |  |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5995246  
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

## IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

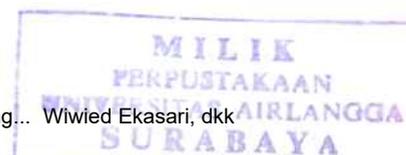
- |                                   |   |   |
|-----------------------------------|---|---|
| 1. a. Judul Penelitian            | : | Uji Anti Helicobacter Pylori Dari Ekstrak Metanol Beberapa Rimpang Tanaman Suku Zingiberaceae |
| b. Macam Penelitian               | : | (V) Fundamental, ( ) Terapan, ( ) Pengembangan  |
| c. Katagori Penelitian            | : | (V) I ( ) II ( ) III  |
| 2. Kepala Proyek Penelitian       |   |   |
| a. Nama Lengkap dan Gelar         | : | Dra. Wiwied Ekasari, Apt.   |
| b. Jenis Kelamin                  | : | Perempuan   |
| c. Pangkat/Golongan dan NIP       | : | Penata Muda (Gol. III/a) 132 087 863  |
| d. Jabatan Sekarang               | : | Staf Pengajar   |
| e. Fakultas/Puslit/Jurusan        | : | Farmasi   |
| f. Univ./Inst./Akademi            | : | Universitas Airlangga   |
| g. Bidang Ilmu Yang Diteliti      | : | Farmakognosi  |
| 3. Jumlah Tim Peneliti            | : | 3 (tiga) orang  |
| 4. Lokasi Penelitian              | : | - Lab. Botanifarmasi-Farmakognosi FF Unair<br>- Lab. Mikrobiologi FK Unibraw - Malang         |
| 5. Kerjasama dengan Instansi Lain |   |   |
| a. Nama Instansi                  | : | -   |
| b. Alamat                         | : | -   |
| 6. Jangka Waktu Penelitian        | : | 6 (enam) bulan  |
| 7. Biaya Yang Diperlukan          | : | Rp 3.000.000.00   |
| 8. Seminar Hasil Penelitian       |   |   |
| a. Dilaksanakan Tanggal           | : | 29 Maret 2000   |
| b. Hasil Penelitian               | : | ( ) Baik Sekali (V) Baik<br>( ) Sedang ( ) Kurang   |

Surabaya, 29 Maret 2001



Mengetahui/Mengesahkan :  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian.

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S. f  
NIP. 130 701 125



## RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : **UJI ANTI *HELICOBACTER PYLORI* DARI EKSTRAK  
METANOL BEBERAPA RIMPANG TANAMAN SUKU  
ZINGIBERACEAE**

Ketua Peneliti : Wiwied Ekasari

Anggota Peneliti : Abdul Rahman  
Sri Winarsih

Fakultas : Farmasi

Sumber Biaya : DIK SUPLEMEN UNAIR 2000  
SK REKTOR No. 4934/JO3/PG/2000  
Tanggal : 13 Juni 2000

---

Adanya penemuan tentang infeksi dari *Helicobacter pylori* dan keterlibatan bakteri ini terhadap penyakit tukak peptik, kanker gastrik, dan beberapa bentuk dari sindrom dispepsia lainnya telah mengubah pandangan para ilmuwan tentang bagaimana diagnosa dan pengatasan dari penyakit ini. Sekarang dengan adanya penemuan tersebut, banyak dilakukan penelitian untuk mengobati penyakit tukak peptik dengan terapi antimikroba yang potent terhadap *H. pylori* daripada mengobati pasien dengan biaya mahal dan waktu yang lama dengan terapi penekan pengeluaran asam.

Di Indonesia, bahan alam yang sering dipakai oleh masyarakat untuk mengobati penyakit lambung dan cukup potensial untuk dikembangkan sebagai antimikroba penghambat infeksi *Helicobacter pylori* adalah tanaman dari suku Zingiberaceae. Beberapa peneliti telah melakukan pengujian dari tanaman suku Zingiberaceae ini terhadap khasiatnya untuk mengobati beberapa penyakit lambung, seperti sebagai anti emetik, anti ulcer ataupun aktivitasnya terhadap bakteri yang diduga penyebab tukak peptik seperti *Staphylococcus sp.*, *E. coli* dll. namun demikian belum pernah dilakukan uji antimikroba terhadap *Helicobacter pylori* sebagai penyebab utama terjadinya tukak peptik ataupun gastritis khronis.. Untuk itulah pada penelitian kali ini dilakukan uji aktivitas dari ekstrak metanol

rimpang beberapa tanaman suku Zingiberaceae yaitu : *Cucurma domestica*, *Cucurma xanthorrhiza*, *Cucurma aeruginosa*, *Alpinia galanga*, *Boesenbergia pandurata*, *Zingiber officinale*, *Zingiber cassumunar* dan *Zingiber aromaticum* terhadap *Helicobacter pylori* penyebab tukak lambung dan gastritis kronis.

Uji aktivitas anti *Helicobacter pylori* dilaksanakan dengan metode pengenceran agar dengan menggunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Sebelum uji aktivitas dilaksanakan terlebih dahulu dilakukan identifikasi terhadap *Helicobacter pylori* yang meliputi uji urease, uji oksidase dan uji katalase .

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya 2 dari 9 macam ekstrak metanol tanaman suku Zingiberaceae yang diteliti terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* yaitu : *Zingiber cassumunar* dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 7,5 mg/ml dan *Zingiber aromaticum* dengan KHM sebesar 2,5 mg/ml.

Dari hasil penelitian yang diperoleh, dapat disarankan untuk perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas anti *Helicobacter pylori* dari tanaman *Zingiber aromaticum* menggunakan berbagai macam pelarut dengan polaritas berbeda sehingga dapat diketahui pada polaritas mana dari tanaman ini yang mempunyai aktivitas paling tinggi yang nantinya dapat dilanjutkan pula dengan mengisolasi kandungan kimia yang berkhasiat aktif sebagai anti *Helicobacter pylori*.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya sehingga kami dapat menyelesaikan penelitian ini dengan judul **UJI ANTI *HELICOBACTER PYLORI* DARI EKSTRAK METANOL BEBERAPA RIMPANG TANAMAN SUKU ZINGIBERACEAE.**

Pada kesempatan ini TIM PENELITI menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA yang mendukung penelitian ini.

Tak lupa kami mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ketua Lembaga Penelitian Unair yang mendukung dan membantu penelitian ini.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah membantu menyediakan fasilitas dan sarana penelitian
3. Ketua Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, atas sarana dan fasilitas yang diberikan
4. Dr. Wahjo Dyatmiko yang telah memberikan bimbingan dan konsultasinya.
5. Seluruh Staf Pengajar dan karyawan Jurusan Biologi Farmasi serta semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Semoga amal ibadah Bapak-bapak , Ibu-ibu dan rekan-rekan diterima Allah SWT.

Kami menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini kurang sempurna, oleh sebab itu tim peneliti mengharapkan kritik dan saran agar karya ilmiah ini menjadi lebih sempurna.

Surabaya, Maret 2001

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Hal
Lembar Identitas Dan Pengesahan	i
Ringkasan	ii
Kata Pengantar	iv
Daftar Isi	v
Daftar Tabel	vi
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
1. Latar Belakang Masalah.....	1
2. Rumusan Masalah .....	4
3. Tujuan Penelitian .....	4
4. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
1. Tinjauan Tentang Tanaman .....	6
1.1. Tanaman <i>Curcuma domestica</i> .....	6
1.2. Tanaman <i>Curcuma xanthorrhiza</i> .....	7
1.3. Tanaman <i>Curcuma zedoaria</i> .....	8
1.4. Tanaman <i>Alpinia galanga</i> .....	8
1.5. Tanaman <i>Boesenbergia pandurata</i> .....	9
1.6. Tanaman <i>Zingiber officinale</i> .....	10
1.7. Tanaman <i>Zingiber cassumunar</i> .....	11
1.8. Tanaman <i>Zingiber aromaticum</i> .....	11

2. Tinjauan tentang <i>Helicobacter pylori</i> .....	12
3. Tinjauan tentang Akktivitas Antimikroba dari Tanaman .....	15
4. Tinjauan tentang Metode Pengujian Aktivitas Mikroba .....	17
4.1. Metode Difusi .....	18
4.2. Metode Dilusi .....	19
4.3. Metode Bioautografik .....	20
5. Metode Uji Aktivitas Antibakteri yang digunakan .....	23
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	25
1. Bahan Penelitian .....	25
1.1. Bahan Tumbuhan .....	25
1.2. Mikroba Uji .....	25
2. Alat-alat .....	26
3. Lokasi Penelitian .....	26
4. Prosedur Penelitian .....	26
4.1. Ekstraksi Bahan Coba .....	26
4.2. Pembuatan Media Klutur <i>Helicobacter pylori</i> .....	27
4.3. Cara Penanaman .....	27
5. Uji untuk Penentuan <i>Helicobacter pylori</i> .....	28
6. Uji Antimikroba .....	29
6.1. Preparasi Ekstrak Uji .....	29
6.2. Preparasi Media .....	29
6.3. Preparasi Mikroba Uji .....	30
6.4. Pelaksanaan Uji Antimikroba .....	30

BAB IV. HASUL DAN PEMBAHASAN .....	32
1. Hasil Ekstraksi .....	32
2. Hasil Penentuan <i>Helicobacter pylori</i> .....	33
3. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba .....	34
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	37
DAFTAR PUSTAKA .....	38

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil ekstraksi dari tumbuhan yang diteliti .....

Tabel 2 Hasil uji aktivitas dari ekstrak tanaman yang diteliti .....

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1. LATAR BELAKANG

Pengetahuan akan penyebab penyakit tukak peptik, kanker gastrik, dan beberapa bentuk dari sindrom dispepsia seperti kembung, nyeri ulu hati, rasa tidak enak diperut, nyeri epigastrium, rasa kenyang, rasa penuh, mual, muntah dan lain sebagainya mengalami perubahan. Adanya penemuan tentang infeksi dari *Helicobacter pylori* dan keterlibatan bakteri ini terhadap penyakit diatas telah mengubah pandangan para ilmuwan tentang bagaimana diagnosa dan pengatasan dari penyakit ini. (Dooley, 1993 ; Dunn 1994). Sekarang dengan adanya penemuan tersebut lebih banyak dilakukan penelitian untuk mengobati penyakit tukak peptik dengan terapi antimikroba yang potent terhadap *Helicobacter pylori* daripada mengobati pasien dengan biaya yang mahal dan waktu yang lama dengan terapi penekan pengeluaran asam.

*Helicobacter pylori* adalah bakteri gram negatip berbentuk spiral yang hidup dalam lambung dan usus. Kehadiran bakteri ini dalam mukosa gastrik dihubungkan dengan gastristik khronis, yang seringkali bergabung dengan komponen aktif inflamasi serta terjadinya tukak peptik pada individu terinfeksi. Penelitian secara retrospektif menunjukkan bahwa individu yang terinfeksi oleh *Helicobacter pylori* mempunyai resiko yang cenderung meningkat untuk berkembang menjadi adenokarsinoma. Gastrik yang terkolonisasi dalam waktu lama dengan *Helicobacter pylori* dapat menginduksi terjadinya atropik gastritis kronik , yang mana ini merupakan perkusor dari kanker gastrik Hal inilah yang dimaksudkan bahwa

eradikasi dari bakteri ini khususnya dalam populasi dimana infeksi *Helicobacter pylori* didapat pada usia muda, dapat menurunkan tingkat kejadian dari neoplasma ini. (Jong, 1996).

Angka prevalensi infeksi *Helicobacter pylori* di negara yang sedang berkembang pada usia  $\pm$  20 tahun sudah mencapai 70 %, sedangkan dinegara maju lebih rendah. Peningkatan resiko terjadinya gastritis khronis, tukak peptik serta keganasannya dapat disebabkan tingginya infeksi *Helicobacter pylori* pada usia muda (O'Morain, 1994). Sedang Harijono (1992) melakukan penelitian di Malang dan mendapatkan angka prevalensi relatif gastritis kronis dengan penderita dispepsia sebesar 90,3% dimana dari kultur mukosa antrum didapatkan *Helicobacter pylori* sebesar 69%. Gastritis khronis karena infeksi *Helicobacter pylori* banyak didapatkan pada usia produktif yaitu antara 20 – 49 tahun.

Untuk terapi tukak peptik dan gastritis khronis yang disebabkan oleh *Helicobacter pylori* biasanya digunakan antibiotika dengan tujuan untuk membunuh bakteri ini. Tetapi biasanya dikombinasikan dengan obat-obat lain dengan mekanisme yang berbeda yaitu H<sub>2</sub> bloker, penghambat pompa proton atau obat-obat lain yang dapat meningkatkan pertahanan mukosa lambung agar efektif digunakan sebagai anti *Helicobacter poylori*, misalnya kombinasi bismut subsalisliat, tetrasiklin dan metronidazol. Kombinasi ini dapat menimbulkan efek samping yang merugikan seperti terjadinya resistensi, anafilaksis, sindroma Stevens Johnson dll (Anonim, 1994).

Dari berbagai hal tersebut diatas, maka tidaklah mengherankan pencarian obat yang poten terhadap bakteri ini terus dilakukan, diantaranya adalah yang berasal dari bahan alam seperti yang telah dilakukan oleh Cassel (1991) ; Fabry (1996) dll.

Di Indonesia, bahan alam yang sering dipakai oleh masyarakat untuk mengobati penyakit lambung dan cukup potensial untuk dikembangkan sebagai antimikroba penghambat infeksi *Helicobacter pylori* adalah tanaman dari suku Zingiberaceae ( Heyne, 1987). Masyarakat memakai rimpang dari beberapa tanaman suku ini untuk obat sakit perut, maag, memperkuat lambung, mencegah mual dan muntah, kembung dan berbagai rasa yang tidak enak di perut.

Beberapa peneliti telah melakukan pengujian dari tanaman suku Zingiberaceae ini terhadap khasiatnya untuk mengobati beberapa penyakit lambung, seperti sebagai anti emetik, anti ulcer ataupun aktivitasnya terhadap bakteri yang diduga penyebab tukak peptik seperti *Staphylococcus sp*, *E. coli* dll. namun demikian belum pernah dilakukan uji antimikroba terhadap *Helicobacter pylori* sebagai penyebab utama terjadinya tukak peptik ataupun gastritis kronis. Untuk itulah pada penelitian kali ini akan dilakukan uji aktivitas dari ekstrak metanol rimpang beberapa tanaman suku Zingiberaceae yaitu : *Curcuma domestica*, *Curcuma xanthorrhiza*, *Curcuma aeruginosa*, *Alpinia galanga*, *Boesenbergia pandurata*, *Zingiber officinale*, *Zingiber cassumunar* dan *Zingiber aromaticum* sebagai tanaman yang sering dipakai secara tradisional oleh masyarakat terhadap *Helicobacter pylori* penyebab tukak lambung dan gastritis kronis dengan menggunakan metode pengenceran agar dapat diketahui Konsentrasi Hambat Minimalnya sehingga didapatkan landasan ilmiah tentang penggunaan tanaman ini.

## 2. RUMUSAN MASALAH

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak metanol rimpang dari tanaman *Curcuma domestica*, *Curcuma xanthorrhiza*, *Curcuma zedoaria*, *Curcuma aeruginosa*, *Alpinia galanga*, *Boesenbergia pandurata*, *Zingiber officinale*, *Zingiber cassumunar* dan *Zingiber aromaticum* menunjukkan aktivitas hambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*?
2. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimal dan dari masing-masing ekstrak ?

## 3. TUJUAN PENELITIAN

### 3.1. TUJUAN UMUM

Untuk memperoleh data ilmiah tentang aktivitas antimikroba terhadap *Helicobacter pylori* dari tanaman suku Zingiberaceae, sehingga dapat dipilih satu tanaman yang mempunyai aktivitas antimikroba yang terkuat yang mempunyai prospek untuk dikembangkan sebagai obat antimikroba yang baru.

### 3.2 TUJUAN KHUSUS

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak metanol rimpang tanaman *Curcuma domestica*, *Curcuma xanthorrhiza*, *Curcuma zedoaria*, *Curcuma aeruginosa*, *Alpinia galanga*, *Boesenbergia pandurata*, *Zingiber officinale*, *Zingiber cassumunar* dan *Zingiber aromaticum* menunjukkan aktivitas hambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*
2. Untuk menentukan berapakah Konsentrasi Hambat Minimal dari masing-masing ekstrak

#### 4. MANFAAT PENELITIAN

Dengan diperolehnya data ilmiah mengenai aktivitas tanaman suku Zingiberaceae terhadap *Helicobacter pylori*, maka akan dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut sampai didapatkan senyawa murni yang berkhasiat sebagai antimikroba sehingga didapatkan bahan obat nabati yang dapat menghambat *Helicobacter pylori*

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Tinjauan tentang Tanaman

##### 1.1. Tanaman *Curcuma domestica* (*Cucurma Longa*, Kunir)

Tanaman ini tumbuh dimana-mana di seluruh Jawa terutama di hutan jati, merupakan jenis temu yang paling terkenal dan merupakan jenis temu yang paling banyak digunakan dan paling tinggi harganya. Potongan rimpang yang tua merupakan bahan yang lebih baik ditanam dan lebih awal dapat dipanen. Sepanjang tahun orang dapat terus-menerus menanam, tetapi pertumbuhan yang paling baik dapat dicapai kalau ditanam pada akhir musim hujan.

Thamlikitkul (1989) melakukan studi terhadap 160 orang untuk mengetahui kemampuan tanaman ini untuk pengobatan dispepsia dengan cara random yang dibandingkan dengan plasebo pada satu propinsi dengan 5 rumah sakit, dari hasil penelitian ini ternyata terdapat perbedaan yang bermakna antara *Curcuma domestica* dengan plasebo dan ini merupakan hasil klinik yang amat penting untuk diteliti lebih lanjut. Sedangkan Rafatullah (1990) juga melaporkan bahwa ekstrak metanol dari tanaman ini dapat menghambat sekresi gastrik dan melindungi mukosa gastroduodenal terhadap luka yang disebabkan oleh pylorik, stress hipotermik serta indometasin. Pemakaian bahan ini secara oral dengan dosis 500 mg/kg pada tikus ternyata mempunyai aktivitas yang bermakna sebagai anti ulcerogenik terhadap bahan diatas.

Sri (1991) juga telah meneliti bahwa ekstrak air ini dapat mencegah dan menyembuhkan ulkus ventrikuli tikus yang disebabkan oleh salisilat. Dari daya antimikrobanya, rimpang dari tanaman ini juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* serta *Pseudomonas aeruginosa* (Nana, 1981 ; Susilowati, 1985)

## 1.2. Tanaman *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (Temulawak)

Terna, tinggi hingga 2,5 m, susunan akar terdiri dari suatu umbi sebesar telur, atau lebih besar lagi, kesamping ada 3-4 jari-jari panjangnya tebalnya 2/5 cm. Pada penampang rimpang dipinggir berwarna muda, di tengah berwarna kuning. Baunya tajam dan rasanya pahit

Sebagai bahan pewarna, jenis ini digunakan di Madura. Sobekan pandan yang akan di cat kuning direbus dengan ekstrak temu ini, dicampur dengan cairan dari kulit *Garcinia dulcis*, sebagai bahan fiksir diberikan air sitrun atau buah asam. Di tempat lain khasiat temulawak sebagai bahan pewarna banyak pula dimanfaatkan.

Netti (1986) melaporkan bahwa rimpang tanaman ini mempunyai daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Staphylococcus thypusa* dan *Bacillus subtilis* . Studi klinikal tentang pemakaian tanaman ini sebagai antimikroba juga telah diteliti oleh Hentshel (1996). Kemudian Claeson (1993) juga telah mengisolasi senyawa tanaman yang di Eropa dipakai sebagai obat penyakit lambung dalam aktivitasnya sebagai antiinflamasi.

### 1.3. Tanaman *Curcuma zedoaria* (Temu putih)

Terna, tinggi  $\pm 2$  m, rimpang putih, rasanya pahit sekali. Tumbuh liar di Sumatra dan di hutan Jawa Timur. Rimpangnya dimanfaatkan untuk mengobati gangguan pencernaan, merangsang keluarnya gas, tonikum, menghilangkan rasa sakit sewaktu haid dan sebagai obat luar untuk memecah bisul, memar. Abunya yang masih hangat dan berasal dari rimpang yang segar, bersifat antiseptik yang dipergunakan untuk menutup luka (Anonim, 1988)

### 1.4. Tanaman *Curcuma aeruginosa* (Temu ireng)

Terna, di Jawa pada ketinggian 400 hingga 750 m diatas permukaan laut, mudah dikenal dari lingkaran yang berwarna biru atau berwarna seperti timah. Rimpangnya yang berdaging sering dipakai sebagai sumber pati pengganti ketela pohon atau jagung dimasa paceklik. Sebagai obat dalam digunakan untuk obat cacing, merangsang keluarnya gas perut, meredakan kolik atau mules, obat batuk, asma dan sariawan. Bubur akar yang diremas-remas dengan minyak kelapa digunakan sebagai obat penyakit kudis (Anonim, 1988).

### 1.5. Tanaman *Alpinia galanga* (Lengkuas)

Terna, tinggi 7-8 kaki, bagian dalamnya berwarna putih berbau seperti rempah-rempah, rasanya pedas dan panas, terasa keras pada lidah. Sukar dipotong karena seratnya kasar. Kalau dikeringkan bagian dalamnya berwarna abu-abu. Sebagai obat dalam rimpang lengkuas digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan, meredakan kolik atau mules (sebagai pereda peristaltik usus),

memperkuat lambung dan isi perut . Sebagai penawar racun atau kejang, parutan rimpang segarnya digunakan untuk menanggulangi gangguan limpa dan herpes (Heyne, 1988). Hiroshi (1987) telah melakukan uji sitotoksisitas dan aktivitas anti jamur dari tanaman ini, hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa diterpen dari lengkuas mempunyai aktivitas yang poten.

#### 1.6. Tanaman *Boesenbergia pandurata* (Temu Kunci)

Terna, tumbuh liar di hutan jati dan dibudidayakan dimana-mana, tingginya tidak lebih dari satu kaki. Temu kunci tidak boleh dibiarkan dalam tanah lebih dari 4 bulan, karena kalau lebih dari itu bagian yang berguna akan hilang. Umbi induk merupakan bola kecil yang dilingkari oleh akar-akar kecil seperti kunci-kunci yang menggantung dengan leher sempit yang lambat-laun bertambah lebar. Temu kunci ini yang diambil untuk dimanfaatkan sedang akar induk dapat ditanam kembali.

Rimpang kunci ini bila diris-iris dan dikunyah dengan pinang merupakan obat batuk yang kering dan sariawan ditenggorokan. Dapat juga sebagai obat perut yang menggemuk, sukar kencing pada anak-anak, obat cacing gelang dan dapat sebagai obat untuk wanita yang mengalami bengkak di kandungan , dicampur dengan rempah-rempah lain dapat sebagai obat infeksi pada alat kelamin wanita.

Tanaman ini telah diteliti oleh Yulvia (1990) terhadap beberapa bakteri penyebab tukak secara in vitro dan didapatkan hasil bahwa rimpang tanaman ini dapat menghambat bakteri *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*. dan *Streptococcus sp*. Sedangkan Ida (1998) juga melaporkan bahwa rimpang tanaman

ini mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan jamur *Candida albicans*.

### 1.7. Tanaman *Zingiber officinale* (Jahe)

Tanaman ini berupa herba tahunan, tegak /condong, tinggi bisa mencapai 1 m, berbatang semu, terdiri dari guludan pelepah daun, ramping, bulat dan lunak, tumbuhnya membentuk rumpun. Daun menyirip berseling, helai daun bentuk lanset ramping dengan ujung dan pangkal meruncing, warna hijau tua dengan pertulangan daun berwarna lebih muda namun tampak jelas. Perbungaan keluar dari rimpang samping, muncul dari permukaan tanah, bertangkai semu, panjangnya 1/4 tinggi tanaman. Tangkai tersusun dari guludan pelepah daun penumpu bunga. Rimpangnya bercabang rapat, panjang membulat, buntak, sisi luar berwarna coklat kotor, irisan melintang berwarna kuning atau jingga, berserat. Seluruh bagian tanaman berbau aromatis khas jahe, terutama rimpang baunya sangat tajam dan agak pedas.

Tanaman ini sering dipakai dalam pengobatan tradisional untuk mencegah muntah, penyakit gastrointestinal serta sebagai antimikroba. Ini dapat dibuktikan dengan Toshiyasu (1993) yang dapat mengisolasi senyawa 6,8 dan 10 – shogaols dan 6,8,10- gingerol dari tanaman ini yang berkhasiat sebagai anti emetik. Hal ini didukung pula oleh Sharma (1997) yang meneliti kemampuan antiemetik dari tanaman ini terhadap cisplatin yang dapat menginduksi muntah pada anjing, dan didapatkan hasil bahwa tanaman ini mempunyai aktivitas yang menjanjikan serta dapat sebagai obat antiemetik yang murah. Sedangkan dari aktivitas antimikrobanya telah diteliti oleh Sustiami (1994) dengan hasil yang memuaskan.

### 1.8. Tanaman *Zingiber cassumunar* (Bangle)

Merupakan herba tahunan tegak yang berumpun rapat, tinggi bisa mencapai 1,5 m, berbatang semu terdiri dari guludan pelepah daun. Daun walaupun berpelepah namun tidak bertangkai, susunan daun menyirip berseling. Bentuk daun lanset ramping, tipis dan lemas, tidak berbulu. Bunganya muncul dari permukaan tanah, berasal dari rimpang samping, bertangkai semu terdiri dari guludan pelepah daun penumpu bunga. Bunga berbentuk gelondong. Daun penumpu tersusun seperti sisik ikan atau genting sirap, kaku, tebal, berwarna merah, hijau kecoklatan. Rimpangnya buntak, tidak bercabang banyak, warna kehijauan, bau aromatis tidak enak khas bangle, tajam, rasanya pahit dan pedas.

Seduhan rimpang bangle digunakan sebagai antidotum, demam dan gangguan perut. Daging rimpang sebagai obat luar digunakan untuk tapel menutup luka lama, borok. Dekok daun digunakan untuk mengobati nyeri lambung. Air parutan rimpang digunakan untuk obat cacing, penenang anak kecil, merangsang keluarnya gas perut (karminativum) dan stimulasi. Rimpang bersama daun jati belanda digunakan untuk mengurangi berat badan (Anonim).

### 1.9. Tanaman *Zingiber aromaticum* (Lempuyang wangi)

Tanaman ini merupakan herba tahunan, tegak berbatang semu terdiri dari guludan pelepah, tinggi bisa mencapai 1,5 m. Susunan daun menyirip berseling, daun berbentuk lanset dengan ujung dan pangkal meruncing, warna hijau tua, pertulangan daun tampak jelas. Bunga muncul dari dalam tanah berasal dari rimpang samping, berwarna kuning atau jingga kekuningan. Rimpangnya lebih besar dari

lempuyang empit namun lebih kecil dari lempuyang gajah, lebih berserat. Bau sangat aromatis khas lempuyang wangi, rasa pahit dan pedas. Perbanyakannya menggunakan stek rimpang atau memisahkan tunas dari rumpunnya. Ekstrak dingin dari tumbuhan ini digunakan untuk menyembuhkan penyakit empedu, sedang air rebusannya untuk obat penyakit kuning. Seduhan rimpang untuk stimulan, asma, merangsang membran mukosa lambung, penambah nafsu makan. Sebagai obat luar untuk mengurangi rasa sakit (Anonim, 1988)

## 2. Tinjauan tentang *Helicobacter Pylori*

Kehadiran mikroorganisme yang berbentuk spiral dalam mukosa lambung telah dilaporkan hampir 100 tahun yang lalu, awalnya dinamakan *Campylobacter pyloridis*, yang kemudian dirubah menjadi *Campylobacter pylori* dan terakhir menjadi *Helicobacter pylori*. Mula-mula bakteri ini ditemukan oleh ilmuwan dari Australia yaitu Warren dan Marshall. Bakteri ini terdapat pada antrum lambung, yang belum pernah dikulturkan dan hubungannya dengan gastritis kronis belum dijabarkan. Dugaan pertama bakteri ini terdapat dalam genus *Campylobacter* tetapi morfologi flagelnya tidak seperti genus *Campylobacter*. *Campylobacter* mempunyai satu flagel yang tidak terlindungi pada salah satu atau kedua ujung dari sel, sedang organisme ini mempunyai empat atau lima flagel yang terlindungi pada satu ujung selnya. Sehingga pada awalnya organisme ini dinamakan *Campylobacter pyloridis* yang sekarang lebih dikenal dengan *Helicobacter pylori* (Marshall, BJ. Warren, 1983)



Bakteri ini motile, termasuk gram negatif, berbentuk bengkok dengan sifat oksidase, katalase dan urease yang positif.

Marshall (1984) melaporkan adanya hubungan yang kuat antara kehadiran *Helicobacter pylori* dan adanya inflamasi pada biopsi gastrik. Orang yang tidak terkena gastritis tidak mempunyai bakteri ini.

*Helicobacter pylori* mempunyai panjang 2 - 4  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,5 - 1,0  $\mu\text{m}$ , motil, mempunyai lapisan pelindung yang halus, punya 5 - 6 flagela yang terselubung dan ujung terminalnya berbentuk bulat. Bakteri ini dapat tumbuh pada lingkungan yang sangat asam, dimana sebagian besar mikroorganisme mati pada lingkungan ini. Bakteri ini memproduksi urease dalam jumlah banyak, yang merupakan enzim yang mengubah urea menjadi amonia yang menghasilkan pH tinggi pada tempat tumbuhnya dan dapat merusak sel epitel lambung. Toksin dan lipopolisakarida yang dihasilkan oleh *Helicobacter pylori* dapat merusak lapisan mukosa sel sehingga asam lambung dapat memperparah iritasi dinding sel lambung (Tortora, 1994).

Mukosa lambung manusia merupakan habitat bagi *Helicobacter pylori* terutama dimukosa antrum atau mukosa duodenum. *Helicobacter pylori* dapat diisolasi dari ludah, karang gigi dan tinja. Mamalia seperti kera, babi, babon dan kucing juga merupakan sumber penularannya. Di Peru pengadaan air bersih untuk kota-kota merupakan sumber penularan yang penting terjadinya infeksi pada anak-anak (Owen, 1995). Pada studi eksperimen ternyata *Helicobacter pylori* dapat hidup dalam air dan makanan dingin untuk beberapa hari. Bakteri ini diduga mempunyai

bentuk non spiral yaitu berbentuk kokoid yang dapat bertahan hidup dalam air segar sampai satu tahun (West, 1992)

*Helicobacter pylori* telah diketahui dapat mengikat antigen dari golongan darah O pada sel epitel lambung (orang dengan golongan darah O memiliki resiko dua kali lebih besar dari golongan darah lain menderita penyakit tukak dan kanker lambung). Sistem imun dapat bereaksi bila terdapat *Helicobacter pylori* dan secara tidak sengaja dapat menyebabkan kerusakan yang menimbulkan efek korosif asam (Tortora, 1994)

Pola dari infeksi *Helicobacter pylori* seperti polyomyelitis atau hepatitis A yaitu dengan kontak secara oral, dan berhubungan dengan higienis dan sanitasi selain itu dapat juga ditularkan melalui alat-alat kedokteran seperti instrumen biopsi dan endoskopi (Sleisenger, 1993).

*Helicobacter pylori* dapat tumbuh pada lingkungan yang sangat asam, dimana sebagian besar mikroorganisme mati pada lingkungan ini. *Helicobacter pylori* memproduksi urease dalam jumlah banyak, suatu enzim yang mengubah urea menjadi amonia yang menghasilkan pH tinggi pada tempat tumbuhnya (Tortora, 1994). Tumbuhnya bakteri ini menyebabkan rusaknya lapisan mukus sehingga asam lambung dapat mengiritasi dinding sel lambung.

Terapi *Helicobacter pylori* sangat menarik dan unik sebab bakteri ini dapat hidup pada suasana yang sangat asam di lambung. Pertimbangan pemilihan terapi didasarkan pada efisiensi, efek samping dan biaya. Kombinasi tiga antimikroba yang mengandung bismut subsalisilat, tetrasiklin dan metronidazol dapat memberikan hasil rata-rata 90 % . Gabungan amoksisilin dan tetrasiklin atau

metronidazol lebih rendah sekitar 80 %. Kombinasi ranitidin, metronidazol dan amoksisilin memberikan hasil 90 %. Kombinasi ganda dari omeprazol (penghambat pompa proton) dan amoksisilin memberikan hasil kurang dari 80%. Efek samping terapi dengan kombinasi tiga obat lebih besar daripada kombinasi dua obat.

Problem utama dari terapi ini adalah resistensi terhadap antimikroba golongan nitromedazol seperti metronidazol akibatnya dalam beberapa pengobatan terjadi kesalahan.

Selain menggunakan antibiotika, sekarang mulai dikembangkan pengobatan alternatif dengan menggunakan tanaman obat, misalnya tanaman yang mengandung flavonoid, alkaloid dan sebagainya

### **3. Tinjauan tentang Aktivitas Antimikroba dari Tanaman**

Pada pengujian ada atau tidaknya aktivitas antimikroba dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan tertentu umumnya digunakan ekstrak kasar dari organ tumbuhan tersebut sebagai bahan uji. Pengujian dapat dilakukan dengan metode difusi, dilusi maupun bioautografik. Sebagai langkah awal, pengujian terhadap ekstrak kasar ini dapat digunakan sebagai petunjuk pertama ada tidaknya senyawa kandungan yang memiliki aktivitas antimikroba. Hoffmann et al. (1993) menyatakan bahwa sari kasar yang menunjukkan aktivitas antimikroba pada kadar 2000 µg/ml pada metode dilusi agar dikategorikan sebagai ekstrak yang memberi harapan untuk ditemukannya senyawa kandungan yang bersifat anti infeksi. Mengingat bahwa di dalam 2000 µg/ml sari kasar masih terdapat puluhan sampai ratusan senyawa maka kadar zat aktif yang sebenarnya dapat hanya beberapa

mikrogram saja yang berarti zat aktif tersebut memiliki potensi yang cukup kuat sebagai anti mikroba. Oleh karena itu pada pengujian aktivitas anti mikroba ada peneliti yang membatasi agar sebaiknya menggunakan batas konsentrasi tertinggi 2000 µg/ml namun sejumlah peneliti lain masih menggunakan konsentrasi sampai 5000 µg/ml untuk mendapatkan senyawa aktif yang kadarnya sangat rendah didalam ekstrak. Ekstrak yang masih menunjukkan aktivitas pada kadar 100 µg/ml dapat dikategorikan sebagai sangat potensial. Karena pada umumnya konsentrasi hambat minimum dari antibiotika adalah  $\leq 10$  µg/ml maka zat murni yang tidak menunjukkan aktivitas pada konsentrasi 100 µg/ml dapat dipandang sebagai tidak bermanfaat secara klinik (Rios et al., 1988).

Prosedur ekstraksi dan isolasi senyawa-senyawa kandungan tumbuhan sangat beragam sesuai dengan sifat dan ragam zat kandungan yang akan diisolasi. Salah satu hal yang harus diperhatikan adalah menghindari kerusakan zat kandungan karena panas atau reaksi enzimatik (Robinson, 1983). Oleh karena itu metode pengeringan sampel sangat mempengaruhi hasil. Pengeringan yang cepat dapat mengurangi resiko kerusakan akibat reaksi enzimatik, namun pengeringan dengan sinar matahari langsung dapat merusak senyawa kandungan akibat panas yang tinggi dan energi cahaya yang mengenai bahan. Demikian juga dengan metode ekstraksi yang digunakan. Untuk menghindarkan kerusakan senyawa kandungan maka sebaiknya digunakan ekstraksi dingin tanpa menggunakan pemanasan. Tidak terdeteksinya aktivitas antimikroba dari suatu ekstrak dapat disebabkan karena zat aktif telah mengalami kerusakan selama pengeringan sampel atau selama ekstraksi.

Untuk telaah awal ada tidaknya aktivitas biologis dari zat kandungan suatu tumbuhan maka penggunaan metode ekstraksi total dengan menggunakan dua atau tiga macam pelarut yang memiliki kepolaran berbeda banyak digunakan. Untuk menarik zat-zat kandungan yang bersifat non polar dapat digunakan n-heksana, kloroform atau diklormetana dan untuk menarik zat-zat kandungan yang bersifat polar digunakan metanol. Dengan demikian diperoleh dua atau tiga jenis ekstrak yang diharapkan telah dapat menyari seluruh zat kandungan tumbuhan yang diteliti. Dengan cara demikian deteksi awal dapat dilakukan dengan lebih cepat dan lebih murah.

Untuk isolasi senyawa aktif maka dapat digunakan prosedur fraksinasi yang dipandu bioaktivitas. Pemisahan dapat dilakukan dengan didasarkan pada perbedaan sifat fisiko-kimia senyawa kandungan menggunakan metode fraksinasi zat-zat kandungan antara dua jenis solven yang tidak saling campur dan dilanjutkan dengan metode kromatografi.

Pada penelitian aktivitas anti mikroba maka hal penting yang harus diperhatikan adalah ada atau tidaknya sifat antimikroba dari solven yang digunakan. Oleh karena itu sebelum pelaksanaan pengujian, sisa solven harus diuapkan dengan seksama agar ekstrak uji telah bebas dari solven.

#### **4. Tinjauan Tentang Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba**

Terdapat berbagai metode untuk deteksi sifat antimikroba dari senyawa yang terkandung di dalam tumbuhan. Secara umum metode uji aktivitas antimikroba dapat

dikelompokkan menjadi tiga yaitu : metode difusi, metode dilusi dan metode bioautografik (Rios et al, 1988) dengan keunggulan dan kelemahan masing-masing.

#### 4.1. Metode Difusi

Metode ini banyak digunakan karena lebih murah dibandingkan metode yang lain karena pada sebuah cawan petri yang berisi biakan mikroba uji dapat digunakan sampai 6 jenis ekstrak. Pada metode difusi , zat uji diserapkan pada cakram kertas saring kemudian cakram yang berisi bahan uji diletakkan diatas media yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Cara lain ialah dengan menempatkan sejumlah tertentu bahan uji didalam sumur yang dibuat pada media yang telah diinokulasi dan selanjutnya zat uji dibiarkan melakukan kontak dengan kultur mikroba uji. Adanya aktivitas antimikroba dari zat uji diketahui dari tidak terdapatnya pertumbuhan mikroba uji disekitar cakram atau sumur yang mengandung zat uji, umumnya teramati berupa zona jernih yang melingkari cakram atau sumur. Besarnya aktivitas zat uji diukur berdasarkan parameter hambatan pertumbuhan mikroba uji dibanding dengan antibiotika kontrol yang digunakan. Metode ini tidak membutuhkan dispersi yang homogen dari zat uji di dalam media. Kelemahan dari metode ini adalah pada pengujian senyawa yang bersifat non polar karena senyawa tersebut akan sukar berdifusi ke dalam media yang berair. Oleh karena itu hasil negatif yang ditunjukkan oleh metode ini dapat disebabkan karena zat uji tidak dapat berdifusi ke media. Pada penggunaan cakram, zat uji dapat dilarutkan atau disuspensikan terlebih dahulu menggunakan alkohol 20 %, tween 80 0,5% atau PEG kemudian diimpregnasikan ke dalam cakram setelah pelarut alkohol menguap seluruhnya (Rios, et al, 1988).

## 4.2. Metode Dilusi

Metode dilusi memerlukan dispersi yang homogen dari zat uji di dalam media berair. Hal ini dapat dicapai dengan melarutkan terlebih dahulu zat uji ke dalam solven yang sesuai baru kemudian dicampur homogen dengan media. Sedapat mungkin solven yang digunakan tidak memiliki aktivitas anti mikroba pada batas konsentrasi yang digunakan. Pada media yang telah bercampur homogen dengan bahan uji ini kemudian diinokulasikan mikroba uji dengan cara sebaran menggunakan ose atau dengan cara spot/totolan menggunakan pipet mikro dan selanjutnya diinkubasi. Ada tidaknya aktivitas antimikroba dari bahan uji dapat diketahui dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan koloni mikroba uji. Kadar zat uji dapat mencapai 5 mg/ml media dan ekstrak yang masih menunjukkan aktivitas anti mikroba pada kadar 1mg/ml dapat dikategorikan sebagai sangat potensial. Karena umumnya konsentrasi hambat minimum dari antibiotika adalah 10 µg/ml maka isolat murni yang tidak menunjukkan aktivitas pada konsentrasi 100 µg/ml dapat dipandang sebagai kurang bermanfaat secara klinik (Rios et al, 1988)

Menurut Sahm and Washington II (1991), metode dilusi dapat digunakan untuk menetapkan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari suatu senyawa aktif. Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi terendah dari suatu senyawa yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme dan dinyatakan dalam satuan µg/ml. Prosedur untuk penetapan konsentrasi hambat minimum ini dapat dilaksanakan dengan metode berbasis agar atau berbasis broth. Bahan antimikroba biasanya diuji dengan cara pengenceran lipat dua secara berurutan dan konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan kasat mata dari suatu mikroorganisme

dicatat sebagai konsentrasi hambat minimum. Jangkah konsentrasi uji dapat beragam tergantung pada bahan uji dan mikroorganisme uji yang digunakan.

Keuntungan metode ini adalah fleksibilitasnya karena semua bahan yang berbentuk serbuk dapat digunakan dengan cara dilarutkan dahulu dalam pelarut yang sesuai kemudian diencerkan dengan akuadest atau larutan buffer fosfat, disamping itu hasilnya bersifat kuantitatif. Ekstrak yang bersifat non polar dapat didispersikan dengan bantuann DMSO atau DMF dengan kadar maksimum 2% dalam media. Keuntungan lainnya dari metode dilusi dibandingkan metode difusi adalah metode dilusi kontak antara mikroba uji dengan bahan uji lebih baik karena bahan uji telah terdispersi homogen di dalam media. Pada metode difusi hal ini tidak terjadi atau sulit terjadi karena zat uji hanya diletakkan pada tempat tertentu diatas media dan diharapkan zat uji mampu berdifusi ke media sekitarnya. Kemampuan difusi dari zat uji terutama akan ditentukan oleh sifat kepolaran zat tersebut. Zat-zat polar akan lebih mudah berdifusi atau larut karena media yang digunakan merupakan media berair.

#### 4.3. Metode bioautografik

Metode bioautografik sebenarnya berdasarkan kepada metode difusi di mana zat aktif berdifusi dari plat kromatogram ke media (Rios et al, 1988). Keuntungannya ialah media yang digunakan hanya tipis saja sehingga difusi zat aktif ke media lebih mudah terjadi. Keuntungan lain adalah senyawa kandungan dalam ekstrak uji telah dipisahkan secara kromatografi lapis tipis sehingga mempermudah untuk mengetahui zat mana yang aktif dari sejumlah senyawa lain yang terdapat

dalam ekstrak uji. Penetapan aktivitas antimikroba dengan metode bioautografik sangat ideal untuk tujuan isolasi senyawa aktif yang terpandu bioaktivitas karena dengan metode ini lokasi senyawa aktif pada kromatografi lapis tipis dapat langsung diketahui walaupun berada dalam campuran yang kompleks. Dengan penggunaan metode ini dimungkinkan untuk melakukan isolasi yang terpandu dengan bioaktivitas dari zat kandungan (Rahalison et al, 1991)

Menurut Rios et al. (1988) metode bioautografik memiliki tiga variasi yaitu :

1. Bioautografik kontak. Pada metode bioautografik kontak, lempeng kromatogram yang telah dibebaskan dari solven pengembang atau eluen diletakkan tengkurap diatas media yang telah diinokulasi dengan mikroba uji dan zat kandungan dibiarkan berdifusi selama 15-30 menit pada suhu 0-5 C. Kemudian plat kromatogram diangkat dengan hati-hati dan selanjutnya media yang telah berisi hasil difusi zat uji diinkubasi untuk selanjutnya diamati bercak yang berisi zat aktif, yaitu ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan mikroba uji pada wilayah tersebut. Pengamatan ada tidaknya pertumbuhan mikroba uji dapat dilakukan dengan cara visual biala yaitu mengamati spot jernih yang menandakan tidak adanya pertumbuhan mikroba uji. Cara lain adalah dengan menggunakan indikator yang berubah warna akibat aktivitas pertumbuhan mikroba uji.
2. Bioautografik langsung. Pada metode bioautografik langsung, media cair yang telah diinokulasi dengan mikroba uji disemprotkan atau diratakan kelempeng kromatogram dan selanjutnya dilakukan inkubasi seperti cara bioautografik kontak. Pada cara ini maka pengamatan ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba

uji hanya dapat dilakukan dengan bantuan zat indikator. Indikator yang umumnya digunakan adalah garam-garam tetrazolium seperti p-iodonitrotetrazolium violet (INT), trinitro blue tetrazolium (TNBT) dan methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) (Hamburger and Cordell, 1987). Oleh aktivitas enzim dehidrogenase yang dilepaskan oleh mikroba hidup maka garam tetrazolium akan diubah menjadi senyawa formasan yang berwarna. Dengan demikian bercak-bercak kromatogram yang dapat membunuh mikroba akan tidak berwarna sehingga bercak aktif akan tampak sebagai spot tak berwarna dengan latar belakang warna.

3. Bioautografik imersi. Pada metode bioautografik imersi, plat kromatogram dibenamkan kedalam media kemudian dibiarkan selama 4 jam pada suhu kamar atau pada freezer, sesudah itu dilakukan inokulasi dan inkubasi.

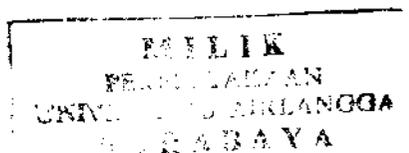
Kesukaran yang dihadapi pada uji aktivitas anti mikroba dari sari tumbuhan adalah rendahnya kelarutan dari zat-zat nonpolar dalam media berair yang digunakan. Untuk membantu dispersi zat uji yang kurang polar ke dalam media berair dapat digunakan tween 20 dengan rasio antara zat uji dengan tween = 1 : 8 kemudian disuspensikan kedalam media. Selain itu dapat juga dilakukan dengan cara melarutkan zat uji dalam metanol atau aseton sedemikian hingga konsentrasi akhir pelarut ini dalam media uji tidak lebih dari 2 % (Rios et al., 1988). Wahyuono (1991) menggunakan DMSO 2 % untuk membantu dispersi zat uji dan Kubo et al. (1993) menggunakan DMF dengan konsentrasi akhir dari DMF adalah 1% dimana pada konsentrasi ini baik DMSO maupun DMF tidak mengganggu pertumbuhan mikroba.

Selain itu , zat uji dapat juga dilarutkan terlebih dahulu dalam pelarut yang sesuai dengan kadar diatas 1000 $\mu$ g/ml dan diperlakukan sebagai larutan stok. Sebagai pelarut untuk larutan stok dapat digunakan air, bufer fosfat, metanol, dimetilformamid, dimetil sulfoksid, NaOH 0,1 M atau HCL 0,05 M. Untuk pengenceran digunakan air steril atau bufer fosfat 0,1 M pH 6 (Anhalt dan Washington II, 1991). Preparasi bahan uji dapat juga dilakukan sebagai berikut : 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 0,2 ml pelarut (air, metanol, aseton atau solven lain yang tidak memiliki aktivitas antimikroba sampai konsentrasi akhir 2%) dan dicampur dengan 10 ml media secara aseptik. Ekstrak yang aktif diuji lagi pada kadar 100  $\mu$ g/ml. Untuk sampel minyak atsiri maka minyak atsiri dilarutkan terlebih dahulu dalam tween 20 dengan konsentrasi minyak atsiri 10 % (Rios et al , 1988)

## 5. Metode Aktivitas Antibakteri yang Digunakan

Metode yang digunakan pada penelitian kali ini adalah Metode Pengenceran (Dillution Method) dengan menggunakan pengenceran agar. Disini digunakan metode pengenceran agar , karena metode ini adalah metode yang paling tepat digunakan untuk mengetahui harga Kadar Hambat Minimal suatu bahan antimikroba (Berghe, 1991).

Untuk metode pengenceran agar, ekstrak tanaman uji dicampur dengan media yang sesuai dan setelah itu diinokulasi dengan mikroba. Setelah inokulasi, pertumbuhan mikroba dapat diperiksa dengan visualisasi secara langsung dengan komparasi kekeruhan yang terjadi dengan kontrol media yang tidak diberi perlakuan atau dengan menumbuhkan mikroba hasil uji tersebut. Pada media ini , dilakukan



beberapa pengenceran dan setelah inokulasi, dilihat pertumbuhan mikroba tersebut. Pada pengenceran terbesar (konsentrasi terkecil) dimana tidak terjadi pertumbuhan maka konsentrasi tersebut disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM)

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **1. Bahan Penelitian**

##### **1.1. Bahan tumbuhan**

- Rimpang *Curcuma domestica*
- Rimpang *Curcuma xanthorriza*
- Rimpang *Curcuma zedoaria*
- Rimpang *Curcuma aeruginosa*
- Rimpang *Alpinia galanga*
- Rimpang *Boesenbergia pandurata*
- Rimpang *Zingiber officinale*
- Rimpang *Zingiber cassumunar*
- Rimpang *Zingiber aromaticum*

##### **1.2. Mikroba Uji**

Bakteri *Helicobacter pylori* yang dipergunakan sebagai mikroba uji diperoleh dari pasien, yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya-Malang

## 2. Alat-alat

Vakum evaporator, bejana tertutup, gelas ukur, petri disk, inkubator, autoklaf, sengkeli, pipet, sochorex, timbangan analitik, tabung reaksi, candle jar, botol berskrup.

## 3. Lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Botanifarmasi-Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga untuk preparasi bahan tanaman sampai dengan ekstraksi, sedang uji aktivitas dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya-Malang.

## 4. Prosedur Penelitian

### 4.1. Ekstraksi Bahan Coba

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi dingin (maserasi) yang dimaksudkan untuk menghindari kerusakan zat-zat kandungan dari bahan uji.

Rimpang dari tanaman *Cucurma domestica*, *Cucurma xanthorriza*, *Cucurma zedoaria*, *Cucurma aeruginosa*, *Alpinia galanga*, *Boesenbergia pandurata*, *Zingiber officinale*, *Zingiber cassumunar* dan *Zingiber aromaticum* dikeringkan, dan diserbuk dengan menggunakan mesin penggiling.

Serbuk-serbuk tersebut sebanyak 100 g masing-masing diekstraksi dengan cara maserasi selama 24 jam pada suhu kamar dengan menggunakan 500 ml metanol dan selanjutnya disaring dengan corong buchner. Ampas dimaserasi lagi dengan cara yang sama sebanyak 2 kali dan disaring. Filtrat-filtrat hasil ekstraksi yang diperoleh

digabung dan diuapkan dengan menggunakan rotavapour sampai didapat ekstrak metanol kental.

#### **4.2. Pembuatan Media Kultur *Helicobacter pylori***

##### **a. Pembuatan Media transport**

Diperlukan bila letak laboratorium jauh dari ruang endoskopi (pengambilan bakteri). Dibuat dari 7,25 g tioglikolat yang dilarutkan dalam 250 ml aquadest dan dididihkan sampai homogen. Media transport ini dituangkan kedalam botol yang berskrup selanjutnya disterilkan dalam autoklaf 121<sup>0</sup> selama 15 menit.

##### **b. Media Agar Darah**

Agar darah base 10 g dilarutkan dalam 250 ml aquadest dididihkan sampai homogen, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf 121<sup>0</sup> selama 15 menit. Kemudian didinginkan sampai suhu 45<sup>0</sup> - 50<sup>0</sup> C. Media tersebut ditambah dengan 17,5 ml darah manusia golongan O, suplemen Skirrow 1ml dan fungizone. Media sebanyak 15 ml kemudian dituang ke petri steril.

#### **4.3. Cara Penanaman sampai pengamatan pertumbuhan**

Potongan biopsi lambung diambil dari media transport thioglikolat dan dimasukkan kedalam botol flakon. Bahan biopsi ditumbuk dengan pengaduk gelas supaya lebih pipih..setelah itu ditanam diatas media agar darah. Kemudian dimasukkan kedalam anaerob jar, ditutup dan dimasukkan kedalam inkubator yang bertemperatur suhu 45<sup>0</sup> - 50<sup>0</sup> C selama 2- 5 hari dalam kondisi mikroaerofilik (10% CCO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> dan 85% N<sub>2</sub>) dengan cara anaerocult C yang sudah ditambah dengan 6 ml aquadest dimasukkan kedalam anaerobic jar . Setelah 2 – 5 hari inkubasi, koloni berwarna abu-

abu kehijauan dan berlendir. Koloni yang muncul kemudian diuji dengan tes urease, tes katalase dan tes oksidase. Hasil tes ini haruslah sesuai dengan test untuk *Helicobacter pylori*.

## 5. Uji untuk penentuan *Helicobacter pylori*

### 5.1. Uji Urease

Ditimbang 2,4 g urea agar base CM 53 dilarutkan dengan 95 ml aquadest, disterilkan dalam autoklaf 115<sup>0</sup> selama 20 menit. Setelah suhu media mencapai 50<sup>0</sup> di tambahkan dengan 5 ml urea 40 % buatan oxoid SR 20. Selanjutnya dibagikan kedalam tabung steril lalu dimiringkan, koloni yang positif akan merubah warna media menjadi merah.

### 5.2. Uji oksidase

Dilarutkan 50 mg paraamino dimetil aniline oxalate dalam 5 ml air suling steril. Dengan menggunakan pipet, reagen oksidase diteteskan pada koloni yang dicurigai. Perubahan warna koloni yang ditetesi menjadi merah lalu hitam dikatakan uji oksidase positif.

### 5.3. Uji katalase

Medium Mueller Hinton 25 g dilarutkan dalam 1 L air suling. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml . Lalu disterilkan dalam autoklaf 121<sup>0</sup> selama 20 menit dan selanjutnya dibiarkan dingin pada suhu kamar. Kemudian diuji sterilitasnya dengan cara diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> selama semalam.

Medium air Mueller Hinton yang tetap steril siap untuk ditanami. Kuman subyek penelitian ditanam pada medium air Mueller Hinton dan diinkubasi dalam anaerobik jar selama 5 hari pada suhu 37<sup>0</sup> C. Pertumbuhan kuman yang terjadi ditetesi dengan 0,5 ml larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% lalu dikocok. Bila timbul gelombang-gelombang gas dari dasar tabung reaksi menuju ke permukaan, biakan air dikatakan uji katalase positif.

## 6. Uji Antimikroba

### 6.1. Preparasi ekstrak uji

Preparasi ekstrak uji dilaksanakan sebagai berikut : Ditimbang sebanyak 100 mg masing-masing ekstrak. Ekstrak dilarutkan terlebih dahulu dalam 0,5% tween 80 dan 0,5% DMSO, baru kemudian ditambahkan 0,5% metanol. Selanjutnya dilarutkan dengan aquadest sampai 5 ml. Kemudian dibuat pengenceran sehingga konsentrasi akhir yang didapat adalah 7,5mg/ml; 5 mg/ml; 2,5 mg/ml; 1,25 mg/ml dan 0,625 mg/ml.

### 6.2. Preparasi Media

1. Media Mueller Hinton : dilarutkan Media MH ke dalam aquadest panas dengan konsentrasi 38 g per liter dan selanjutnya disterilkan menggunakan otoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit dan setelah itu media ditempatkan didalam penangas air bersuhu 48-50<sup>0</sup>C sampai saat digunakan
2. Media DST (oxid) : dilarutkan Media DST ke dalam aquadest panas dengan konsentrasi 40 g per liter dan selanjutnya disterilkan menggunakan otoklaf dengan

suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dan setelah itu media ditempatkan didalam penangas air bersuhu  $48-50^{\circ}\text{C}$  sampai saat digunakan

### 6.3. Preparasi mikroba uji

Diambil 4 atau 5 koloni mikroba hasil pertumbuhan semalam pada media berbasis agar Mueller Hinton. Kemudian dinokulasikan kedalam 5 ml medium cair Mueller Hinton dan kemudian diinkubasi pada anaerobik jar dengan kondisi mikroaerofilik selama  $2 \times 24$  jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  sampai diperoleh kekeruhan. Kekeruhan kemudian diatur dengan pengenceran agar setara dengan 1 Mc Farland ( $3 \times 10^8$  CFU/ml). Sebagai pembanding digunakan suspensi  $\text{BaSO}_4$  pembanding yang setara dengan 1 Mc Farland.

### 6.4. Pelaksanaan uji antimikroba

Disiapkan sederetan tabung dan dibuat pengenceran dari larutan stock tadi sehingga didapatkan pengenceran 7,5; 5; 2,5; 1,25; 0,625 mg/ml Kemudian dicampurkan 0,5 ml ekstrak uji dengan 4,5 ml media steril dalam cawan petri. Dimasukkan masing-masing 100  $\mu\text{l}$  suspensi mikroba uji ( $3 \times 10^8$  CFU/ml) kedalam semua cawan petri kecuali cawan petri ke 6. Konsentrasi akhir dari mikroba uji adalah :  $5 \times 10^6$  CFU/ml Cawan petri ke 6 adalah kontrol sterilitas, sedang cawan petri ke 7 adalah kontrol negatip / kontrol pelarut (tanpa bahan uji). Sebagai pembanding dipakai antibiotika kloramfenikol 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Cawan petri tersebut kemudian diletakkan kedalam anaerob jar, ditutup dan dimasukkan kedalam inkubator yang bertemperatur suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 2- 5 hari dalam kondisi mikroaerofilik (10%  $\text{CCO}_2$ , 5%  $\text{O}_2$  dan

85% N<sub>2</sub>) dengan cara anaerocult C yang sudah ditambah dengan 6 ml aquadest dimasukkan kedalam anaerobic.

**Hasil :** Media yang tidak ditumbuhi kuman pada pengenceran tertinggi adalah merupakan KHM (Kadar Hambat Minimal) dari bahan antibakteri tersebut.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Hasil ekstraksi

Dari 100 g serbuk rimpang masing-masing tanaman yang diekstraksi dengan metanol didapatkan hasil ekstraksi sebagai berikut:

Tabel 1: Hasil ekstraksi dari tumbuhan yang diteliti

No.	Nama Tumbuhan	Berat ekstrak (Gram)
1.	<i>Curcuma domestica</i>	5,6982
2.	<i>Cucurma xanthorrhiza</i>	5,8754
3.	<i>Cucurma Zedoaria</i>	5,9675
4.	<i>Cucurma aeruginosa</i>	5,9983
5.	<i>Alpinia galanga</i>	6,3020
6.	<i>Boesenbergia pandurata</i>	8,4975
7.	<i>Zingiber officinale</i>	9,9651
8.	<i>Zingiber cassumunar</i>	6,0064
9.	<i>Zingiber aromaticum</i>	5,8342

## 2. Hasil Penentuan/Identifikasi *Helicobacter pylori*

### 2.1. Uji Urease

Dari uji urease didapatkan hasil bahwa media yang semula berwarna jernih agak kekuningan menjadi berwarna merah keunguan yang menandakan bahwa uji urease ini positif.

### 2.2. Uji Oksidase

Setelah reagen oksidase diteteskan pada koloni kuman, didapatkan hasil bahwa warna koloni kuman berubah menjadi merah lalu hitam, yang berarti menandakan bahwa uji oksidase ini hasilnya positif.

### 2.3. Uji Katalase

Setelah kuman yang tumbuh ditetesi dengan 0,5 ml larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% lalu dikocok. Maka timbul gelombang-gelombang gas dari dasar tabung reaksi menuju ke permukaan biakan air, yang menandakan bahwa uji katalase ini positif.

### 3. Hasil uji aktivitas anti mikroba

Hasil uji aktivitas anti *Helicobacter pylori* dari ekstrak-ekstrak tanaman yang diteliti adalah seperti yang tercantum pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji aktivitas dari ekstrak tanaman yang diteliti

(+) = ada aktivitas anti *Helicobacter pylori*

(-) = tidak ada aktivitas anti *Helicobacter pylori*

No.	Nama tanaman	Konsentrasi (mg/ml)				
		7,5	5	2,5	1,25	0,625
1.	<i>Cucurma domestica</i>	-	-	-	-	-
2.	<i>Cucurma xanthorriza</i>	-	-	-	-	-
3.	<i>Cucurma zedoaria</i>	-	-	-	-	-
4.	<i>Cucurma aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
5.	<i>Alpinia galanga</i>	-	-	-	-	-
6.	<i>Boesenbergia pandurata</i>	-	-	-	-	-
7.	<i>Zingiber officinale</i>	-	-	-	-	-
8.	<i>Zingiber cassumunar</i>	+	-	-	-	-
9.	<i>Zingiber aromaticum</i>	+	+	+	-	-

Tanaman dari suku Zingiberaceae adalah tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk mengatasi berbagai keluhan penyakit lambung. Masyarakat memakai rimpang dari beberapa tanaman suku ini untuk obat sakit perut, maag, memperkuat lambung, mencegah mual dan muntah, kembung dan berbagai rasa yang tidak enak di perut. Beberapa peneliti telah pula melakukan pengujian dari tanaman suku ini terhadap khasiatnya sebagai anti emetik, anti ulcer ataupun aktivitasnya dengan bakteri yang diduga penyebab tukak peptik seperti *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli* dll. Beberapa diantaranya menunjukkan hasil yang memuaskan dalam aktivitasnya menghambat bakteri-bakteri tersebut. Namun demikian belum pernah dilakukan uji antimikroba terhadap *Helicobacter pylori* sebagai penyebab utama terjadinya tukak peptik ataupun gastritis khronis.

Hasil penelitian diatas menunjukkan ternyata dari 9 ekstrak metanol tanaman suku Zingiberaceae yang diteliti aktivitasnya terhadap *H. pylori* sebagai penyebab utama tukak peptik dan gastritis khronis, hanya 2 ekstrak metanol tanaman yang menunjukkan aktivitas anti *Helicobacter pylori*. walaupun hampir semua tanaman suku Zingiberaceae tersebut mempunyai aktivitas anti bakteri untuk bakteri *staphylococcus* ataupun *E. coli*. Ini menunjukkan pula bahwa bakteri *H. Pylori* mempunyai mekanisme kerja yang berbeda dengan bakteri lainnya, yang dibuktikan dengan kemampuannya untuk dapat tumbuh pada lingkungan yang sangat asam, dimana sebagian besar mikroorganismenya lainnya mati pada lingkungan ini.

Hasil penelitian diatas menunjukkan pula bahwa tanaman *Zingiber aromaticum* (Lempuyang wangi ) mempunyai aktivitas anti *Helicobacter pylori* yang menjanjikan. Bae (1988) menyatakan bahwa ekstrak tanaman dengan konsentrasi Kadar Hambat

Minimal (KHM ) lebih dari 5 mg/ml dinyatakan tidak mempunyai aktivitas anti *Helicobacter pylori* dan bila mempunyai KHM < dari 5 mg/ ml berarti ekstrak tersebut mempunyai aktivitas anti *Helicobacter pylori* dan mempunyai prospek untuk diteliti lebih lanjut. Hal ini berarti bahwa dari tanaman *Zingiber aromaticum* ini perlu dilakukan lagi penelitian tentang aktivitasnya sebagai anti *Helicobacter pylori* menggunakan pelarut dengan polaritas yang berbeda sehingga dapat diketahui pada polaritas mana tanaman ini mempunyai aktivitas paling tinggi yang nantinya dapat dilanjutkan pula untuk mengisolasi kandungan kimianya yang berkhasiat aktif sebagai anti *Helicobacter pylori* .

Disini juga berarti bahwa *Zingiber cassumunar* walaupun ada aktivitas penghambatannya tetapi karena KHM nya adalah 7,5 mg/ml ( lebih dari 5 mg/ml) maka dapat dianggap bahwa ekstrak tanaman tersebut tidak dapat dianggap sebagai anti *Helicobacter pylori*.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Dua dari 9 macam ekstrak metanol tanaman dari suku Zingiberaceae yang dapat menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*, adalah : *Zingiber cassumunar* dan *Zingiber aromaticum*.
2. Kadar Hambat Minimal dari ekstrak metanol *Zingiber cassumunar* adalah 7,5 mg/ml sedangkan KHM dari ekstrak metanol *Zingiber aromaticum* adalah 2,5 mg/ml

#### SARAN

Dari hasil penelitian yang diperoleh, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas anti *Helicobacter pylori* dari tanaman *Zingiber aromaticum* menggunakan berbagai macam pelarut dengan polaritas berbeda sehingga dapat diketahui pada polaritas mana dari tanaman ini yang mempunyai aktivitas paling tinggi yang nantinya dapat dilanjutkan pula dengan mengisolasi kandungan kimia yang berkhasiat aktif sebagai anti *Helicobacter pylori*.

## DAFTAR PUSTAKA

Anhalt, JP and Washington II, JA., 1991, **Preparation and Storage of Antimicrobial solution in : Balows, A (ed), Manual of Clinical Microbiology, 5 th rd, American Society for Microbiology, Washington DC**

Anonim, 1988, **Empon-empon dan Tanaman Lain dalam Zingiberaceae, PERHIPBA, Yogyakarta, hal. 1,8,9,11,15,21-25.**

Anonim, 1994, **Helicobacter pylori in Peptic Ulcer Disease, National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement.**

Bae, EA., Han, MJ., Kim, DH., 1998, **Anti Helicobacter pylori Activity of Herbal Medicines, J. Biol. Phar. Bull. ; 21 (9) : 990 - 992**

Berghe DAV and Vlietinck AJ.,1991, **Screening Methode for Antibacterial and Antiviral Agents From Higher Plants, Methods in Plant Biochemistry Vol. 6, Academic Press Limited, New York : 47 - 66**

Dooley CP, 1993, **Background & Historical Considerations of Helicobacter pylori, Gastroent. Clin. N. Amer ; 22 (1) 1-4**

Dunn BE, 1993, **Pathogenic Mekanism of Helicobacter pylori, Gastroent. Clin. N. Amer ; 22 (1) 43 -57**

Fabry W et al., 1996, **Activity of East African Medicinal Plants Against Helicobacter pylori, Chemotherapy ; 42 (5) : 315 - 317**

Harijono. 1992, **Pengaruh Stresor & Helicobacter pylori Terhadap Respon Imun Mukosa Dalam Patogenesis Gastritis Khronik pada Mus musculus, Program Pasca Sarjana, Univ. Airlangga, Surabaya.**

Heyne K., 1987, **Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid I, yayasan Sarana Wana Jaya, Dep. Kehutanan RI., Jakarta :568 -595**

Hentschel C et al., 1996, **Cucurma xanthorriza (Java tumeric) in Clinal Use, Fortsch. Med : 30 ; 114 (27) : 349 - 350**

Ida, 1998, **Skripsi : Uji Aktivitas Antimikroba dari Rimpang Boesenbergia pandurata (Roxb) Schlecht dengan Metode Bioautografi langsung, FFUA, Surabaya.**

Kubo, I., Muroi, H., Himejima, M., 1993, **Combination Effects of Antifungal Nagilactones Against candida albicans and Two Other Fungi with Phenyl Propanoids, Journal of Natural Products 56 (2) : 220 - 226**

- Marshall BJ, 1989, **History of Discovery of *C. pylori*. *Campylobacter pylori* in Gastritis and Peptic Ulcer Diseases**, Igaku-Shoin Medical Publisher, Inc. pp. 7 -8 .
- Marshall BJ., 1994, ***Helicobacter pylori***, Amer. J. Gastroent; 89 : S116-S128.
- Nana Suriana, 1981, Skripsi :**Pemeriksaan Beberapa Zat Kandungan Serta Daya Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dari Infus Rimpang *Cucurma Domestica***, FF Wid. Mandala, Surabaya.
- Netti S. Hastuti, 1986, Skripsi : **Uji daya Antibakteri Ekstrak temulawak (*Cucurma xanthorrhiza* Roxb). Hasil Fraksional dengan Eter, Minyak Tanah, Khloroform dan Metanol terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *S. Thyposa* dan *B. subtilis***, JF FMIPA UnPand. Padang.
- O'Morain CA, 1994, ***Helicobacter pylori* Infection : Introduction in ( )'Morain CA, O'Connor eds.) *Helicobacter pylori* : Inflications & Practice**, Normed Verlag : Bad Homburg, pp. 1-12
- Rafatullah S. et al., 1990, **Evaluation of Tumeric (*Cucurma longa*) for Gastric and Duodenal antiulcer activity in rats**, J. Ethnopharmacol. :29 (1) : 25 -34
- Rahalison, L., et al., 1991, **A Bioautographic Agar Overlay Methods for the Detection of antifungal Compound from higher Plants**, J. Phytochemical Analysis, 2 : 199 - 203
- Rios, JL., Recio, MC and Villar, A., 1988, **Screening Methods for Natural Products with Antimicrobial Activity : A Review of Literatur**, *Journal Of Ethnopharmacology*, 23 : 127 - 149
- Sharma SS et al., 1997, **Antiemetic efficacy of Ginger (*Zingiber Officinale*) Against Cisplatin-Induced Emesis in Dogs**, J. Ethnopharmacol ; 57 : (2) pp. 93 -96
- Sri Soelistyaningsih, 1991, Skripsi : **Efek Ekstrak Air Kunyit (*Cucurma domestica* Val) Terhadap Ulkus Ventrikuli Tikus Yang Disebabkan Salisilat**, FK UGM, Jogjakarta.
- Susilowati, 1985, Skripsi : **Pengaruh Daya Antimikroba dari Rhizoma *Cucurma domestica* Val. Terhadap Bakteri *Escherichia coli***, FF. Uni. Airlangga, Surabaya.
- Sustiami, 1994, Skripsi : **Pengaruh Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber Officinale* Roxb.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* dan *Aspergillus flavus***, FFUA, Surabaya
- Thamlikitkul V et al., 1989, **Randomized Double Blind Study of *Curcuma Domestica* Val. For Dyspepsia**, J. Med. Assoc. Thai; 72 (11) : 613 -620
- Tortora, Funke, Case, 1994, **Microbiology : an Introduction** , 5 th Edition, The Benjamin/Cumming Publishing Company Inc. pp. 276-277, 408, 624-625

Toshiyasu Kawai et al., 1994, **Anti-Emetic Princiotes of *Magnolia obovata* Bark and *Zingiber officinale* Rhizome**, *Planta Medica* 60. Pp 17-20

P.Claeson et al., 1993 , **Three Non-Phenolic Diarylheptanoids With Anti-Inflammatory activity From *Cucurma xanthorriza***, *J. Planta Medica* ; 59 pp. 451- 454

West AP, Millar MR, Tompkins DS, 1992, **Effect of Physical environment on Survival of *Helicobacter pylori***, *J. clin. Pathol*; 40 : 353 - 358

Yulvia, 1990, Skripsi : **Uji Efek Antimikroba Ekstrak Rimpang Temu Kunci ( *Boesenbergia Pandurata* Roxb.) Terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Tukak Secara In Vitro**. JF FMIPA Univ. Andalas, Padang.