

- ANTIBACTERIAL AGENTS
- BUNNELLACETAT
- LISTERIA MONOCYTOGENES

SKRIPSI

**DAYA ANTIBAKTERIAL INFUSA RIMPANG LENGKUAS
(*Alpinia galanga*, L.) TERHADAP *Listeria monocytogenes*
SECARA *IN VITRO***

KH 45 56

Ad

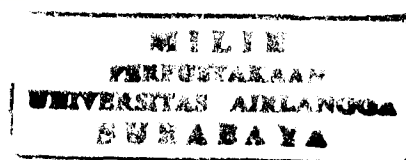


Oleh :

MEISTA ADIWENA
SURABAYA – JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2005



**DAYA ANTIBAKTERIAL INFUSA RIMPANG LENGKUAS
(*Alpinia galanga*, L.) TERHADAP *Listeria monocytogenes*
SECARA *IN VITRO***

**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**

Oleh :

MEISTA ADIWENA

NIM. 060112856

**Menyetujui,
Komisi Pembimbing**



(Rimayanti, M.Kes., Drh.)

Pembimbing I



(Rahmi Sugihartuti, M.Kes., Drh.)

Pembimbing II

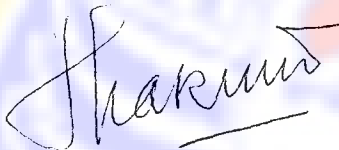
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**.

Menyetujui
Panitia Penguji,



Didik Handijatno, M.S., Drh.

Ketua



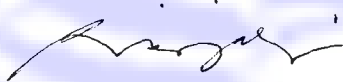
H. Hasutji Endah Narumi, M.P., Drh.

Sekretaris



Iwan Sahrial Hamid, M.Si., Drh.

Anggota



Rimayanti, M.Kes., Drh.

Anggota



Rahmi Sugihartuti, M.Kes., Drh.

Anggota

Surabaya, 1 Juli 2005

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh.

NIP. 130 687 297

**DAYA ANTIBAKTERIAL INFUSA RIMPANG LENGKUAS
(*Alpinia galanga*, L.) TERHADAP *Listeria monocytogenes*
SECARA *IN VITRO***

Meista Adiwena

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui daya antibakterial infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

Penelitian ini menggunakan uji kepekaan metode dilusi yang terdiri dari penentuan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) dengan 3 ulangan dan 11 perlakuan.

Konsentrasi infusa rimpang lengkuas yang digunakan adalah 0%, 10%, 20% hingga 100%. Inokulat yang digunakan yaitu kuman *Listeria monocytogenes* dan suspensinya dibuat dengan memasukkan beberapa koloni bakteri ke dalam *Mueller Hinton Broth* (MHB), kemudian disesuaikan kekeruhannya dengan Standart McFarland no.1 yang kemudian diencerkan tiga kali untuk memperoleh jumlah bakteri sebanyak 10^5 - 10^8 sel per mililiter. Suspensi diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-5 jam. Pengujian MIC dilakukan dengan mencampur suspensi bakteri dengan infusa rimpang lengkuas. Pengujian dilanjutkan dengan mengambil cairan dari tabung MIC yang kemudian di *streak* pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk dilakukan MBC.

Peubah yang diamati adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan (MIC) dan membunuh kuman (MBC) *Listeria monocytogenes*. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa MBC infusa rimpang lengkuas pada ulangan I mampu membunuh bakteri pada konsentrasi 20%, sedangkan pada ulangan II dan III mampu membunuh bakteri pada konsentrasi 40%. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada konsentrasi infusa rimpang lengkuas di atas 61% mampu membunuh *Listeria monocytogenes* sebesar 100%.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah infusa rimpang lengkuas memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadirat Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis berhasil melaksanakan penelitian dan menyusun makalah skripsi dengan baik dan lancar. Makalah disusun berdasarkan hasil penelitian mengenai daya antibakteri infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga, L.*) terhadap pertumbuhan *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penelitian mulai dari pengajuan judul hingga penulisan makalah skripsi tidak lepas dari bantuan dan dukungan semua pihak. Pada kesempatan ini perkenankan penulis dengan rasa hormat menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Ibu Rimayanti, M.kes., Drh. selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Rahmi Sugihartuti M.Kes., Drh. selaku Dosen Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu memberikan saran, nasehat dan bimbingan dengan segala kesabaran.
3. Bapak Didik Handijatno, M.S., Drh. yang telah memberikan saran dan bimbingannya.
4. Bapak Purjoto dan Bapak Giri selaku Asisten Laboratorium Bagian Mikrobiologi yang selama ini telah banyak membantu dalam penelitian ini.
5. Kedua orang tuaku tercinta, adikku Dhani dan semua saudaraku atas segala do`a restu, dorongan semangat, dan bantuannya

6. Mas Naser Effendi, berkat bantuannya sehingga penelitian dapat terselesaikan dengan baik. Sahabat-sahabatku : Lupi, Iis, Luky, Mbak Dahlia, Yeni, Nia, Andriani yang tergabung dalam Kurcaci, terima kasih atas segala bantuan, perhatian, kasih sayang yang sangat berarti selama ini.
7. Seluruh teman-teman angkatan 2001 yang memberikan bantuan, baik secara langsung maupun tak langsung.
8. Rekan-rekan se almamater dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan skripsi.

Akhirnya, disadari sepenuhnya bahwa penyusunan tulisan ilmiah ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna karena sebagai manusia biasa penulis tidak luput dari kesalahan dan kealpaan, maka kritik dan saran yang bermanfaat guna penyempurnaan makalah skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan dunia Kedokteran Hewan pada khususnya.

Surabaya, Juli 2005

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Landasan Teori.....	4
1.4. Tujuan Penelitian.....	6
1.5. Hipotesis Penelitian.....	6
1.6. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tinjauan tentang Lengkuas.....	7
2.1.1. Klasifikasi Lengkuas.....	7
2.1.2. Nama Asing dan Nama Daerah.....	7
2.1.3. Habitat Lengkuas.....	8
2.1.4. Morfologi Lengkuas.....	9
2.1.5. Kegunaan.....	9
2.1.6. Kandungan Kimiawi.....	10
2.2. Tinjauan tentang Bakteri.....	10
2.2.1. Morfologi dan Sifat Pewarnaan.....	10

2.2.2. Biakan dan Sifat Pertumbuhan.....	11
2.2.3. Struktur Antigen dan Toksin.....	11
2.2.4. Patogenesis.....	12
2.2.5. Kejadian Penyakit.....	12
2.3. Tinjauan tentang Antibakteri.....	13
BAB III MATERI DAN METODE.....	14
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	14
3.2. Materi Penelitian.....	14
3.3. Metode Penelitian.....	15
3.3.1. Persiapan Penelitian.....	15
3.3.1.1. Pembuatan Infusa Rimpang Lengkuas.....	15
3.3.1.2. Pembuatan Suspensi Kuman.....	16
3.3.2. Pelaksanaan penelitian.....	16
3.3.2.1. Pengenceran Infusa Rimpang Lengkuas.....	16
3.3.2.2. <i>Minimal Inhibitory Concentration (MIC)</i>	17
3.3.2.3. <i>Minimal Bactericidal Concentration (MBC)</i>	17
3.4. Peubah yang Diamati.....	18
3.5. Analisis Data.....	18
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	19
4.1. Penentuan MIC Infusa Rimpang Lengkuas.....	19
4.2. Penentuan MBC Infusa Rimpang Lengkuas.....	20
BAB V PEMBAHASAN.....	23
BAB VI KESIMPULAN dan SARAN.....	27

BAB VII RINGKASAN.....	28
BAB VIII DAFTAR PUSTAKA.....	30



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penentuan MBC Infusa Rimpang Lengkuas	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi Media yang digunakan.....	33
2. Identifikasi Bakteri.....	34
3. Diagram Alir Persiapan Penelitian.....	37
4. Skema Pelaksanaan Penelitian.....	38
5. Analisis Probit.....	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rimpang Lengkuas yang Digunakan	8
2. <i>Listeria monocytogenes</i>	10
3. Hasil MIC Infusa Rimpang Lengkuas	36
4. Hasil MBC Infusa Rimpang Lengkuas	36



BAB I

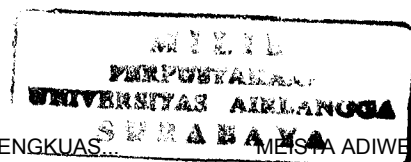
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Penggunaan obat tradisional dengan memanfaatkan tanaman obat telah lama dipraktekkan di seluruh dunia, baik negara berkembang maupun negara maju. Bahkan dalam sejarah kedokteran telah ditunjukkan bahwa sebagian obat tradisional ini ternyata merupakan cikal bakal obat moderen (Mursito, 2002).

Di Indonesia obat tradisional yang dikenal sebagai jamu telah meluas sejak zaman nenek moyang hingga kini dan terus dilestarikan sebagai warisan budaya. Masyarakat Indonesia yang terdiri atas berbagai suku bangsa, memiliki bermacam-macam obat tradisional yang dibuat dari bahan-bahan alami bumi Indonesia, termasuk tanaman obat. Indonesia dianugerahi kekayaan keanekaragaman hayati dengan memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman dan 940 spesies di antaranya diketahui berkhasiat sebagai obat atau digunakan sebagai bahan obat (Anonimus, 1992).

Seperti yang dikatakan Padmawinata (1995) bahwa potensi yang besar berupa kekayaan keanekaragaman hayati ini jika tidak dimanfaatkan sebaik-baiknya sudah pasti tidak akan mempunyai faedah yang besar, sehingga harus dipikirkan agar penggunaan tanaman obat disertai pula dengan usaha pelestarian untuk menunjang penggunaan yang berkelanjutan. Oleh karena itu, dalam rangka pemanfaatan tanaman obat di Indonesia, pemerintah sejak lama menyusun daftar



tanaman obat dalam TOGA (Tanaman Obat Keluarga) yang diharapkan dapat membantu masyarakat jika sakit (Syamsuhidayat, 1994).

Menurut Muhlisah (2003), tanaman obat selain murah dan mudah didapat, juga memiliki efek samping yang lebih rendah tingkat bahayanya dibanding obat-obatan kimia karena efek dari obat yang bersifat alamiah, sehingga tubuhpun relatif lebih mudah menerima obat dari tumbuh-tumbuhan daripada obat kimia. Tanaman obat penting untuk penyembuhan penyakit ringan serta untuk pengobatan awal bagi penderita penyakit berat sebelum dibawa ke dokter atau rumah sakit.

Salah satu contoh tanaman tradisional yang sering digunakan masyarakat adalah lengkuas yang memiliki nama latin *Alpinia galanga*, L. Bagian dari tanaman ini yang sering berkhasiat adalah rimpangnya. Dalam kehidupan sehari-hari lengkuas banyak dipakai sebagai bumbu dapur maupun penyedap berbagai masakan. Sebagai obat tradisional, rimpang lengkuas dimanfaatkan sebagai pengobatan terhadap rheumatik, penyakit kulit seperti panu, kurap dan eksema, bronkhitis, penambah nafsu makan, dan lain-lain. Berkhasiatnya rimpang lengkuas sebagai obat diduga mempunyai efek farmakologis dari senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya, seperti minyak atsiri, saponin, flavonoid, polifenol, tanin dan lain-lain (Anonimus, 2003^b).

Listeria monocytogenes merupakan salah satu jenis bakteri yang terdapat dimana-mana terutama saluran pencernaan manusia dan hewan, termasuk hewan invertebrata. Bakteri ini mampu bertahan hidup di tanah dan di air hingga beberapa bulan bahkan beberapa tahun. Penyakit yang ditimbulkan oleh *Listeria*

monocytogenes disebut dengan listeriosis. Listeriosis mempunyai manifestasi klinis yang hampir sama pada manusia maupun hewan. Pada manusia, listeriosis menyebabkan encephalitis dan abortus (Mitscherlich and Marth, 1984).

Pada hewan ternak seperti sapi dan domba, selain ditandai dengan encephalitis dan abortus yang bersifat sporadis pada akhir masa kebuntingan, juga dapat menimbulkan retensio sekundinarum dan metritis (Hardjopranto, 1995).

Tanaman obat bukan hanya untuk manusia, tetapi juga bermanfaat bagi hewan. Seperti yang dikatakan Maheswari (2002), penggunaan obat tradisional untuk hewan juga telah lama dilakukan oleh para petani di pedesaan dan ternyata penggunaannya semakin meningkat pula akhir-akhir ini. Biasanya, obat yang dikenal untuk obat hewan merupakan obat antibiotik dan antiparasitik. Mengingat penggunaan obat-obatan pada hewan harus diwaspadai adanya residu obat terutama residu antibiotik, maka semakin meningkatnya kesadaran masyarakat akan bahaya residu sehingga mendorong masyarakat untuk mencari alternatif pengganti antibiotik sebagai obat bagi ternaknya. Demikian juga pada pengobatan Listeriosis dengan menggunakan antibiotik, perlu dicarikan alternatif pengganti antibiotik berupa tanaman obat tradisional untuk menghindari dampak yang tidak diinginkan.

Berpangkal dari kenyataan tersebut, maka penulis melakukan penelitian untuk mengetahui seberapa jauh kemampuan rimpang lengkuas sebagai obat tradisional yang mempunyai sifat sebagai daya antibakterial terhadap *Listeria monocytogenes*.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, perumusan masalah yang dapat diajukan adalah:

1. Apakah infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) mempunyai daya antibakterial terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro* ?
2. Pada konsentrasi berapakah infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh *Listeria monocytogenes* secara *in vitro* ?

1.3. Landasan Teori

Listeria monocytogenes merupakan bakteri berbentuk basil, motil pada suhu 25°C, bersifat Gram positif, tumbuh baik pada suhu 37°C dan lambat pada suhu 42°C. Bakteri ini menyebabkan penyakit yang dikenal dengan listeriosis. Infeksi dapat terjadi akibat mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri tersebut. Pada manusia, bakteri ini menyerang wanita hamil, bayi baru lahir dan orang dewasa dengan kekebalan tubuh yang lemah (Anonimus, 2003^a). Dalam bidang kedokteran hewan terutama pada hewan ruminansia, bakteri patogen ini dapat menimbulkan encephalitis, abortus, *septicaemia* (Quinn *et al.*, 2002)

Lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) termasuk dalam famili Zingiberaceae. Tanaman yang memiliki tinggi hingga tiga meter ini terdiri atas dua jenis yaitu lengkuas putih dan merah. Perbedaan antara kedua jenis ini terletak pada warna kulit dan baunya, dimana lengkuas merah lebih berwarna kemerahan dan baunya lebih harum bila dibandingkan dengan lengkuas putih. Lengkuas putih banyak

digunakan sebagai penyedap masakan sedangkan lengkuas merah digunakan sebagai obat. Sejak dahulu lengkuas dipercaya memiliki banyak khasiat, diantaranya sebagai obat rheumatik, penyakit kulit, penambah nafsu makan, dan lain-lain. Hal tersebut disebabkan karena kandungan kimiawi yang terdapat dalam rimpang lengkuas seperti minyak atsiri terdiri atas bermacam-macam zat seperti alpinen, galangol, camphor, galangin dan methylcinnamat, serta kandungan lain seperti saponin, flavonoid, tanin dan polifenol (Anonimus, 2000).

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit (Anonimus, 1974). Kandungan kimia yang terdapat didalam infusa adalah kandungan kimia yang larut dalam air. Pada lengkuas, kandungan kimia yang larut air yaitu saponin dan flavonoid. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan artinya dapat larut dalam air maupun lemak, dapat menurunkan tegangan permukaan dan menimbulkan busa bila dikocok. Saponin berfungsi sebagai antiseptik dan antibakteri, sedangkan flavonoid merupakan senyawa fenol larut air dan alkohol yang mempunyai kemampuan sebagai desinfektan dan mencegah perdarahan kapiler. Dengan adanya kedua kandungan kimiawi tersebut yang mempunyai mekanisme kerja sebagai bakteriosid, diharapkan mampu membunuh *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

1.4. Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan di atas dapat ditentukan tujuan dari penelitian ini, yaitu :

1. Mengetahui daya antibakterial infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.
2. Mengetahui konsentrasi infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

1.5. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan permasalahan, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah:

1. Infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L) memiliki kemampuan sebagai daya antibakterial terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.
2. Pada konsentrasi tertentu infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L) mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

1.6. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L) sebagai daya antibakterial terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tentang Lengkuas

2.1.1. Klasifikasi

Menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991), lengkuas mempunyai klasifikasi sebagai berikut :

- Divisi : Spermatophyta
- Sub divisi : Angiospermae
- Kelas : Monocotyledonae
- Ordo : Zingiberales
- Famili : Zingiberaceae
- Genus : *Alpinia*
- Spesies : *Alpinia galanga*, L.

2.1.2. Nama Asing dan Nama Daerah

Nama Asing

Siamese ginger, *Calangale* (Inggris), *Souchet long*, *Souchet odorant* (Perancis), *Galanga*, *Galgant* (Jerman), *Nankyo* (Jepang), *Galanga maggiore* (Italia) (Anonimus, 2001)

Nama Daerah

Kelawas (Batak), lawas (Lampung), halawas (Nias), Laju (Sunda), laos (Jawa / Madura), Isem (Bali), laos (Sasak), Ringkuwas (Minahasa), laksawe (Seram), langkuenek (Aceh), ailiku (Bugis), langluweh (Minang), galasa (Ternate), likui (Gorontalo) (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).



Gambar 1. Rimpang Lengkuas Putih Beserta Tanamannya (Anonimus, 2001)

2.1.3. Habitat Lengkuas

Lengkuas merupakan tumbuhan semak menahun yang mempunyai tinggi lebih kurang 2 meter (Soediby, 1998). Biasa hidup di dataran rendah atau dataran tinggi di ketinggian 1200 meter diatas permukaan laut (Anonimus, 2000) Lengkuas menyukai tanah gembur, sinar matahari banyak, sedikit lembab tanpa tergenang air.

Daerah asal lengkuas kemungkinan berasal dari Cina Selatan, akan tetapi kini banyak dibudidayakan di Indocina, Malaysia, Thailand, Indonesia dan Bangladesh (Anonimus, 2001).

2.1.4. Morfologi Lengkuas

Lengkuas mempunyai batang semu dengan ketinggian 2 meter. Batang ini terdiri dari pelepah yang menyatu, membentuk rimpang dan berwarna hijau keputihan, sedangkan batang muda keluar sebagai tunas dari pangkal batang tua. Daun lengkuas berbentuk lanset dengan bagian tepi berwarna putih dan bagian tengah berwarna hijau, mempunyai tepi yang rata dengan panjang 25 sampai 50 cm dan lebar 7 sampai 15 cm. Pertulangan menyirip, beralur dan berwarna hijau. Bunga lengkuas majemuk, silindris, terletak di ujung batang dengan mahkota berbentuk tabung, berwarna putih, tegak, kepala sari 2-2,5 cm dengan putik berwarna kuning kehijauan. Buah berbentuk seperti kapsul bulat dan keras, berdiameter 1 sampai 1,5 cm. Buah yang masih muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna hitam. Lengkuas memiliki akar serabut dan berwarna coklat tua (Soedibyo, 1998, Mursito, 2002)

2.1.5. Kegunaan

Rimpang lengkuas banyak digunakan sebagai penyedap masakan atau rempah yang mempunyai rasa seperti perpaduan antara jahe dan lada, terutama di Asia Tenggara dan Asia Selatan. Pemanfaatan rimpang lengkuas sebagai obat tradisional diantaranya sebagai obat anti jamur, anti bakteri, menghangatkan tubuh, membersihkan darah, menambah nafsu makan, mempermudah pengeluaran angin dari dalam tubuh, mengencerkan dahak, pengobatan bronkithis, pengobatan penyakit hewan dan konon berkhasiat aprodisiak (Anonimus, 2000). Bagian bunga dan tunas muda lengkuas digunakan sebagai sayur dan rempah.

2.1.6. Kandungan Kimiawi

Rimpang lengkuas mengandung minyak atsiri 1,5% yang terdiri dari 1,8 *cineol*, *α -pinene*, *eugenol*, *camphor*, *methyl cinnamate*, *sesquiterpen*, *galanga*, *galangol* (Anonimus, 2001). Selain itu, terdapat kandungan lainnya seperti saponin, tanin, flavonoid, basonin, polifenol (Anonimus, 2003^b).

Menurut Ilmi (1995), minyak atsiri rimpang lengkuas berfungsi sebagai bakterisid dan fungisid. Flavonoid berfungsi sebagai bakterisid, fungisid, anti virus, dan mencegah perdarahan kapiler pembuluh darah. Saponin mempunyai kemampuan sebagai antiseptik dan antibakteri. Tanin berfungsi sebagai daya antiseptik yang dapat dipakai sebagai astrigent yang berasal dari tanaman.

2.2. Tinjauan tentang Bakteri

2.2.1. Morfologi dan Sifat Pewarnaan

Listeria monocytogenes merupakan bakteri Gram positif sehingga pada pengamatan mikroskopis selnya tampak berwarna ungu, berbentuk batang dengan ukuran 0,4 sampai 0,5 mili mikron dan tidak membentuk spora. *Listeria* merupakan bakteri yang motil dengan motilitas positif pada suhu 22°C dan negatif pada suhu 37°C dengan pergerakan tidak beraturan (*tumbling*) (Jawetz *et al.*, 2001).



Gambar 2. *Listeria monocytogenes* (Anonimus, 2003^c)

2.2.2. Biakan dan Sifat Pertumbuhan

Dikatakan oleh Bonang (1982) bahwa *Listeria* dapat tumbuh pada sebagian besar media umum, salah satunya Muller Hinton Agar. Kuman ini tumbuh baik pada suhu 25°C dan 37°C, sukar tumbuh pada 42°C dan sangat lambat tumbuh pada 4°C. Setelah 24 jam pada perbenihan Blood Agar pada suhu 37°C akan terlihat koloni-koloni kecil dan bersifat hemolitik beta. Kuman ini tidak membentuk indol dan H₂S, tidak mereduksi nitrat, tidak menggunakan sitrat, tidak membentuk urease, tidak mencairkan gelatin dan serum beku. Kuman ini bersifat katalase positif dan oksidase negatif. Tes merah metil dan Voges-Proskauer adalah positif. Hidrat arang yang diragikan dengan membentuk asam ialah glukosa, ramnosa, maltosa dan salisin.

2.2.3. Struktur Antigen dan Toksin

Listeria mempunyai dua struktur antigen yaitu *Somatic* (O) dan *Flagella* (H). Selain itu, paling sedikit 11 serotipe telah diidentifikasi, akan tetapi 90% infeksi listeriosis klinis disebabkan oleh tipe 1a, 1b dan 4b (Volk dan Wheeler, 1990). Pada sapi dan domba pada umumnya diinfeksi oleh serotipe tipe 1 atau 4 (Timoney *et al.*, 1988).

Listeria juga memproduksi toksin yang berperan sebagai hemolisin atau melisiskan sel darah merah, yaitu Listeriolisin O (LLO). Toksin ini banyak diproduksi sebagian besar bakteri Gram positif seperti *Streptococcus*, *Pneumococcus*, dan *Clostridium* (Anonimus, 2003⁴).

2.2.4. Patogenesis

Semua strain patogen dari listeria memproduksi Listeriolisin O yang struktur antigennya mirip dengan Streptolisin O, yang mana toksin tersebut berperan penting dalam hal invasi kuman ke dalam sel tubuh host. Listeriolisin O penting untuk pertahanan bakteri selama proses fagositosis. Selain itu ada beberapa toksin yang dihasilkan untuk menunjang bakteri menembus sel host, yaitu sitolisin dan enzim yang melindungi kuman dari reaksi oksidasi sel fagosit yaitu enzim katalase (Chakraborty and Wehland, 1997).

Setelah terjadi penularan, Quinn *et al.* (2002) mengatakan bahwa bakteri akan menembus mukosa usus, selanjutnya terjadi penyebaran melalui kelenjar limfa dan aliran darah menuju ke berbagai jaringan. Pada suatu kasus, bakteri dapat mengadakan invasi melalui mukosa hidung atau mulut kemudian migrasi melalui syaraf kranial menuju otak. Hal tersebut diperkirakan menjadi rute utama dalam infeksi neural listeriosis sehingga menyebabkan infeksi pada selaput otak.

Pada hewan bunting, *Listeria* biasanya terlokalisasi dan berkembang biak di dalam plasenta. Infeksi melalui plasenta dapat menyebabkan plasentitis dan *septicaemia* pada fetus yang dikandungnya, diikuti dengan kematian fetus yang kemudian diabortuskan serta timbulnya endometritis (Hardjopranjoto, 1995).

2.2.5. Kejadian Penyakit

Encephalitis merupakan salah satu gejala umum listeriosis pada ternak ruminansia yang menyerang berbagai usia dan jenis kelamin hewan. Pada kambing dan domba morbiditasnya sangat tinggi bahkan dapat menimbulkan

kematian 24 hingga 48 jam setelah muncul gejala klinis. Bakteri terlokalisir pada otak dan menimbulkan gejala klinis seperti anoreksia, depresi, disorientasi, berjalan berputar-putar, dan paralisis wajah.

Sementara itu, abortus karena listeriosis terjadi pada kebuntingan trimester ketiga tanpa diikuti gejala klinis yang berarti. Fetus yang dikandung pada umumnya mati di dalam uterus tetapi masih tetap dikeluarkan. Kejadian abortus pada ruminansia bervariasi dan telah mengalami peningkatan sekitar 20% pada kambing (Anonimus, 2003^d).

2.3. Tinjauan tentang Antibakteri

Sasaran terapi atau pengobatan antibakteri adalah membunuh atau menekan menjalarnya infeksi yang disebabkan oleh bakteri, sehingga pertahanan tubuh dapat menetralkan pengaruh infeksi tersebut dan hasil perlawanan itu adalah kesembuhan (Hanh *et al.*, 1982).

Antibakteri adalah suatu bahan yang dapat membunuh bakteri, disebut juga obat antibakteri. Antibakteri berdasarkan toksisitas selektifnya dapat digolongkan menjadi dua, yaitu bakteriostatik dan bakteriosid. Bakteriostatik adalah suatu bahan yang berkhasiat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan bakteriosid adalah suatu bahan yang berkhasiat membunuh bakteri (Anief, 1991).

Menurut Jawetz (1986), mekanisme kerja obat antibakteri dapat dibedakan menjadi empat golongan yaitu menghambat sintesis dinding sel, mengubah permeabilitas membran sel, menghambat sintesis protein dan menghambat sintesis asam nukleat.

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya pada tanggal 14 Pebruari hingga 24 Maret 2005.

3.2. Materi Penelitian

1. Kuman *Listeria monocytogenes*

Isolat murni *Listeria monocytogenes* diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.

2. Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah Blood Agar sebagai media pertumbuhan kuman dan Mueller Hinton Agar sebagai media uji kepekaan kuman. Media cair yang digunakan sebagai suspensi bakteri adalah Mueller Hinton Broth. Media-media untuk uji biokimiawi di antaranya : Urea Agar, Simmons Citrate Medium, SIM Medium, Peptone Water. Media untuk uji gula-gula di antaranya : glukosa, manosa, ramnosa dan manitol. Uji katalase menggunakan H_2O_2 , sedangkan untuk pewarnaan gram menggunakan kristal violet, lugol, alkohol aceton dan safranin.

3. Rimpang lengkuas

Lengkuas yang digunakan dalam penelitian ini adalah lengkuas putih berumur muda yang diperoleh dari pasar tradisional Wonokromo, Surabaya.

4. Aquadest steril

5. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan antara lain : rak dan tabung reaksi, cawan petri, ose, pembakar Bunsen, inkubator, pipet, gelas ukur, *autoclave*, kasa steril, botol kaca gelap, gelas ukur.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi sebagai penentu *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC).

3.3.1. Persiapan Penelitian

3.3.1.1. Pembuatan Infusa Rimpang Lengkuas

Penentuan konsentrasi infusa rimpang lengkuas mengacu pada Farmakope Indonesia Edisi IV. Acuan ini sebagai dasar untuk menentukan konsentrasi infusa rimpang lengkuas yang digunakan dalam penelitian ini yaitu konsentrasi 100%. Cara pembuatan simplisia : rimpang lengkuas dicuci bersih, kemudian tiriskan. Rimpang lengkuas dirajang kecil-kecil dan diangin-anginkan (Anonimus, 1985). Setelah cukup kering, 100 gram simplisia dimasukkan dalam 100 mililiter aquadest, dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu

mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Setelah itu disaring dengan kasa steril. Apabila volume infusa yang diperoleh kurang dari 100 mililiter, tambahkan air panas melalui simplisia tadi hingga diperoleh volume yang diinginkan.

3.3.1.2. Pembuatan Suspensi Kuman

Pembuatan suspensi kuman dilakukan dengan mengambil beberapa koloni kuman kemudian dibiakkan pada Mueller Hinton Broth steril, setelah itu kekeruhan dari suspensi bakteri ini disetarakan dengan Standart Mc Farland no.1. Jika kekeruhan tidak sebanding, tambahkan larutan MHB sampai dicapai kekeruhan yang sesuai dengan kekeruhan Standart Mc Farland no.1 (Bailey, 1986). Suspensi tersebut kemudian diencerkan sebanyak 3 kali untuk memperoleh jumlah bakteri sebanyak 10^8 sel per mililiter, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-5 jam (Suryanie, 1997). Hal tersebut didukung oleh pendapat Beishir (1983) bahwa syarat uji kepekaan kuman ialah $10^5 - 10^8$ sel per mililiter.

3.3.2. Pelaksanaan Penelitian

3.3.2.1. Pengenceran Infusa Rimpang Lengkuas.

Caranya dengan menyiapkan sebelas tabung steril dengan diberi nomor satu sampai sebelas. Tabung nomor satu diisi 1 ml infusa rimpang lengkuas (konsentrasi 100%), tabung nomor dua diisi 0,9 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,1 ml aquadest (konsentrasi 90%), tabung nomor tiga diisi 0,8 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,2 ml aquadest (konsentrasi 80%), tabung

nomor empat diisi 0,7 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,3 ml aquadest (konsentrasi 70%), tabung nomor lima diisi 0,6 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,4 ml aquadest (konsentrasi 60%), tabung nomor enam 0,5 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,5 ml aquadest (konsentrasi 50%), tabung nomor tujuh diisi 0,4 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,6 ml aquadest (konsentrasi 40%), tabung nomor delapan diisi 0,3 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,7 ml aquadest (konsentrasi 30%), tabung nomor sembilan diisi 0,2 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,8 ml aquadest (konsentrasi 20%), tabung nomor sepuluh diisi 0,1 ml infusa rimpang lengkuas ditambah 0,9 ml aquadest (konsentrasi 10%), tabung nomor sebelah diisi 1 ml aquadest (konsentrasi 0%). Semua isi tabung dicampur hingga homogen.

3.3.2.2. *Minimal Inhibitory Concentration (MIC)*

MIC bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan kuman tertentu (Lay, 1994). Caranya dari tiap-tiap tabung (konsentrasi 100% hingga 0%) ditambahkan 1 ml suspensi kuman, aduk hingga homogen kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan MIC dilihat dari kejernihan larutan tersebut.

3.3.2.3. *Minimal Bactericidal Concentration (MBC)*

MBC bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari suatu larutan antibakteri dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada media (Finegold and Baron, 1986). Caranya adalah dengan mengambil suspensi kuman dari masing-

masing tabung dari uji MIC, kemudian ditanam pada media Mueller Hinton Agar dengan cara goresan (*streak*), kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.4. Peubah yang Diamati

Pada MIC apabila ada perubahan larutan menjadi jernih berarti antibakteri pada konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan kuman, tetapi apabila larutan tetap keruh berarti konsentrasi antibakteri tertentu tidak mampu menghambat pertumbuhan kuman. Pada MBC apabila tidak terdapat pertumbuhan koloni kuman, berarti antibakteri pada konsentrasi tertentu dapat membunuh kuman, tetapi apabila masih terdapat pertumbuhan koloni kuman maka antibakteri tidak berpengaruh terhadap kuman.

3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis probit (SPSS for Windows) dengan 11 perlakuan dan 3 ulangan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan penelitian tentang daya antibakterial infusa rimpang lengkuas terhadap kuman *Listeria monocytogenes* dengan metode dilusi yaitu penentuan MIC dan MBC didapatkan hasil penelitian sebagai berikut :

4.1. Penentuan MIC Infusa Rimpang Lengkuas

Pengamatan hasil penelitian terhadap MIC infusa rimpang lengkuas ditentukan dengan melihat cairan dalam tabung MIC. Apabila tetap keruh, menunjukkan terdapat pertumbuhan kuman *Listeria monocytogenes* atau konsentrasi infusa rimpang lengkuas yang ditentukan tidak mempunyai efek terhadap pertumbuhan bakteri *Listeria monocytogenes*. Apabila cairan pada tabung MIC menjadi jernih maka konsentrasi infusa rimpang lengkuas yang ditentukan mampu menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes*.

Tampak dari hasil penelitian ini kejernihan cairan infusa tidak dapat diamati untuk menentukan MIC karena semua perlakuan menunjukkan kekeruhan yang timbul akibat adanya endapan infusa yang tidak larut sempurna dalam air. Kekeruhan yang ditimbulkan oleh endapan infusa ini tidak dapat dibedakan dengan kekeruhan yang ditimbulkan oleh karena adanya pertumbuhan bakteri, sehingga pengamatan MIC dengan mata telanjang tidak dapat dilaksanakan. Hasil MIC dapat diamati pada Lampiran 3.

4.2. Penentuan MBC Infusa Rimpang Lengkuas

Pengamatan MBC infusa rimpang lengkuas ditentukan dengan cara mengambil larutan pada tabung MIC dengan ose steril untuk ditanam pada *Mueller Hinton Broth* (MHB) dengan cara *streak*, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mengamati pertumbuhan *Listeria monocytogenes*. Apabila pada media MHA tidak terdapat pertumbuhan *Listeria monocytogenes*, maka konsentrasi tertentu dari infusa rimpang lengkuas mempunyai pengaruh terhadap *Listeria monocytogenes* atau konsentrasi tertentu infusa rimpang lengkuas mampu membunuh bakteri tersebut.

Dari hasil MBC pada penelitian ini, terlihat bahwa pada konsentrasi 100%, ulangan I, II dan III tidak terdapat pertumbuhan *Listeria monocytogenes*, begitu pula pada konsentrasi 90% hingga 50% dari ulangan I, II dan III juga tidak terdapat pertumbuhan kuman. Pada konsentrasi 40% ulangan II dan III terdapat pertumbuhan koloni *Listeria monocytogenes*, sedangkan pada ulangan I tidak terdapat pertumbuhan koloni kuman. Pada konsentrasi 30% ulangan II dan III terdapat pertumbuhan koloni kuman, sedangkan pada ulangan I tidak terdapat pertumbuhan koloni kuman. Pada konsentrasi 20% hingga 0% pada keseluruhan ulangan tumbuh koloni *Listeria monocytogenes*. Hasil dari gambar MBC infusa rimpang lengkuas terhadap *Listeria monocytogenes* disajikan dalam bentuk tabel (lihat Tabel 1).

Tabel 1. Penentuan MBC Rimpang Lengkuas

KONSENTRASI	Penentuan MBC pada ulangan ke		
	I	II	III
100%	-	-	-
90%	-	-	-
80%	-	-	-
70%	-	-	-
60%	-	-	-
50%	-	-	-
40%	-	+	+
30%	-	+	+
20%	+	+	+
10%	+	+	+
0%	+	+	+

Keterangan : - : Tidak tumbuh koloni *Listeria monocytogenes*

+ : Tumbuh koloni *Listeria monocytogenes*

Dari data penelitian tersebut kemudian diolah dengan Analisis Probit dan menunjukkan bahwa konsentrasi 60,14% mampu membunuh *Listeria monocytogenes* sebesar 99%, sedangkan konsentrasi terkecil yang mampu membunuh sebesar 1% adalah 31,87%. Pada konsentrasi di atas 61% mampu membunuh *Listeria monocytogenes* sebesar 100% (hasil selengkapnya dapat dibaca pada Analisis Probit pada lampiran 6).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa infusa rimpang lengkuas mampu membunuh *Listeria monocytogenes* dengan besar kemampuan yang bervariasi dari setiap perlakuan pada konsentrasi yang berbeda.

BAB V

PEMBAHASAN

Penentuan konsentrasi minimal infusa rimpang lengkuas yang dapat menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes* (MIC) adalah dengan melihat perubahan larutan dari keruh menjadi jernih yang dibandingkan dengan kontrol. Adanya kekeruhan menunjukkan pertumbuhan bakteri, sebaliknya adanya kejernihan menunjukkan hambatan pertumbuhan bakteri. Sedangkan penentuan konsentrasi minimal infusa rimpang lengkuas yang dapat membunuh bakteri (MBC) dilakukan dengan penanaman pada media MHA.

Pada penelitian ini, MIC infusa rimpang lengkuas tidak terbaca (tidak dapat diamati kejernihan masing-masing tabung bila dibandingkan dengan kontrol). Hal ini disebabkan warna dari cairan infusa rimpang lengkuas yang keruh. Semakin banyak kandungan infusa yang terdapat pada tabung MIC, maka tingkat kekeruhan yang ditimbulkan juga semakin tinggi. Selain itu, adanya endapan infusa yang tidak larut sempurna dalam air juga menimbulkan kekeruhan bila dikocok.

Adanya kekeruhan ini, pembacaan MIC dengan mata telanjang tidak dapat diamati kejernihan pada masing-masing tabung, karena tidak dapat dibedakan antara kekeruhan yang ditimbulkan bakteri dengan kekeruhan dari cairan infusa itu sendiri, sehingga tidak dapat diamati pada konsentrasi ke berapa pertumbuhan bakteri mulai dihambat. Hal ini dapat diamati pada hasil MIC pada foto penelitian (lihat Lampiran 3).

Hasil MBC dapat diamati seperti pada Tabel I. Variabel yang digunakan untuk menarik hasil adalah dengan melihat tumbuh atau tidaknya *Listeria monocytogenes* pada media MHA yang diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil MBC diolah lebih lanjut menggunakan Analisis Probit dan diperoleh hasil pada konsentrasi infusa rimpang lengkuas di atas 61% mampu membunuh *Listeria monocytogenes* sebesar 100%. Beberapa penyebab mengapa bakteri baru dapat terbunuh pada konsentrasi di atas 61% antara lain : lapisan dinding sel *Listeria monocytogenes* sebagai bakteri Gram positif, *Listeria* yang merupakan bakteri intraseluler, dan konsentrasi infusa rimpang lengkuas itu sendiri.

Dinding sel bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang sangat tebal, mencapai 90% dari dinding sel bakteri. Peptidoglikan ini terbentuk dari dua macam ikatan yaitu ikatan glikosida dan ikatan peptida, dimana kedua ikatan tersebut menyebabkan suatu bentuk anyaman jala yang kuat dari dinding sel, sehingga dapat menahan tekanan dari luar. Selain itu dinding sel kuman Gram positif mengandung asam Teikoat yang terdiri dari polisakarida yang bersifat asam. Asam Teikoat ini sangat penting bagi pertumbuhan dan daya tahan sel Gram positif terhadap panas dan lingkungan (Jawetz *et.al*, 1986). Dengan adanya kandungan-kandungan tersebut, menyebabkan kesulitan bagi bahan obat untuk menembus ke dalam sel bakteri.

Listeria monocytogenes merupakan bakteri intraseluler yang hidup di dalam sel monosit (Anonimus, 2003^d). Keadaan ini menimbulkan kesulitan lebih besar bagi bahan obat untuk menembus ke dalam sel dan menjangkau bakteri bila dibandingkan dengan bakteri ekstraseluler pada umumnya.

Penyebab lain mengapa bakteri baru terbunuh pada konsentrasi di atas 61% adalah konsentrasi dari infusa rimpang lengkuas itu sendiri. Semakin tinggi konsentrasi antibakteri infusa rimpang lengkuas maka kandungan kimiawi yang terkandung didalamnya juga semakin tinggi, sehingga daya bunuh terhadap *Listeria monocytogenes* juga semakin besar, demikian pula sebaliknya, semakin rendah konsentrasi infusa rimpang lengkuas maka kandungan kimiawi yang terkandung juga semakin kecil, sehingga daya bunuhnya semakin kecil pula. Hal tersebut diperkuat oleh pendapat Jawetz *et al.*, (1986) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu antibakteri, maka semakin kuat kemampuannya bekerja sebagai bakteriosid.

Daya bunuh terhadap *Listeria monocytogenes* pada penelitian ini disebabkan karena kandungan kimia yang terdapat pada infusa rimpang lengkuas yang terlarut dalam air yaitu saponin dan flavonoid.

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dalam air sehingga bersifat seperti sabun serta mempunyai kemampuan sebagai antibakteri (Ilmi, 1995). Saponin dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu saponin triterpenoid dan saponin steroid. Saponin triterpenoid sering dimanfaatkan sebagai ekspektoran, sedangkan saponin steroid mempunyai aktivitas sebagai hormon (Robinson, 1995).

Menurut Siswandono dan Soekarjo (1995), Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran. Membran sel yang berfungsi sebagai tempat keluar masuknya makanan dan memelihara integritas

komponen-komponen sel menjadi sangat rentan terhadap agen yang dapat menurunkan tegangan permukaan dan menyebabkan berubahnya struktur serta fungsi membran sel, sehingga menyebabkan terjadinya denaturasi protein. Hal ini menyebabkan membran sel menjadi lisis dan rusak, dan menyebabkan kematian pada bakteri.

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang larut dalam air panas dan alkohol yang bersifat sebagai desinfektan. Flavonoid berkhasiat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, memperbaiki kerapuhan kapiler, antifungi, antibakteri dan diuretik. Flavonoid menyebabkan denaturasi protein dan merusak membran sel bakteri. Denaturasi protein menyebabkan terhentinya aktivitas metabolisme bakteri karena semua aktivitas metabolisme bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Dengan terhentinya aktivitas metabolisme tersebut, maka menyebabkan kematian bakteri (Trease and Evan, 1978). Hal tersebut dapat dilihat bahwa pada konsentrasi diatas 61% sudah tidak ditemukan lagi koloni bakteri karena flavonoid berikatan dengan protein sehingga menghalangi daya aktivitas metabolisme bakteri.

Dengan demikian infusa rimpang lengkuas telah terbukti mampu bekerja sebagai daya antibakterial terhadap kuman *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian daya antibakteri infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*, dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) mempunyai daya antibakterial terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*
2. Konsentrasi infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) diatas 61% mampu membunuh *Listeria monocytogenes* secara *in vitro* sebanyak 100%.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka melalui penelitian ini disarankan bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai infusa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) sebagai daya antibakterial terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vivo*.

RINGKASAN

Meista Adiwena. Dilakukan penelitian mengenai daya antibakterial rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*, L.) terhadap *Listeria monocytogenes* secara *in vitro* di bawah bimbingan Ibu Rimayanti, M.Kes., Drh sebagai pembimbing pertama dan Ibu Rahmi Sugihartuti, M.Kes., Drh sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah infusa rimpang lengkuas sebagai daya antibakterial memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

Infusa rimpang lengkuas diencerkan secara bertingkat yaitu dari konsentrasi 100% hingga 10%. Pada pengujian MIC, dari tiap-tiap pengenceran infusa ditambahkan satu mililiter suspensi kuman yang telah disesuaikan dengan Standart McFarland no.1 dan diencerkan tiga kali, kemudian tabung-tabung MIC diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil MIC diamati dari kekeruhan atau kejernihan cairan tersebut. Pada pengujian MBC, dari masing-masing tabung MIC dilakukan *streak* pada media Mueller Hinton Agar dengan menggunakan ose steril. Setelah itu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil MBC diamati dari ada atau tidaknya pertumbuhan koloni kuman pada media. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 11 perlakuan dan 3 ulangan, kemudian pengolahan datanya dilakukan menggunakan analisis probit (SPSS for Windows).

Pada penentuan MIC, hasil tidak dapat terbaca karena kandungan kimia dari rimpang lengkuas yang bersifat non polar sehingga menyebabkan kekeruhan pada tabung MIC.

Pada penentuan MBC, diperoleh hasil infusa rimpang lengkuas yang mampu membunuh *Listeria monocytogenes* adalah pada ulangan I ialah pada konsentrasi 20%, sedangkan pada ulangan II dan III pada konsentrasi 40%. Data yang diperoleh diolah menggunakan Analisis Probit, sehingga didapat hasil pada konsentrasi diatas 61% infusa rimpang lengkuas mampu membunuh *Listeria monocytogenes* sebesar 100%.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa infusa rimpang lengkuas memiliki kemampuan sebagai daya antibakteri terhadap *Listeria monocytogenes* dan pada konsentrasi diatas 61% infusa mampu membunuh kuman sebesar 100%.

Peneliti menyarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai infusa rimpang lengkuas yang diaplikasikan secara *in vivo* guna diperoleh dosis yang tepat sebagai pengobatan terhadap Listeriosis di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M. 1991. Apa Yang Perlu Diketahui Tentang Obat. Cetakan Kedua. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Anonimus. 1974. Ekstra Farmakope Indonesia. Lembaga Farmasi Nasional Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Anonimus. 1985. Cara Pembuatan Simplisia. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Anonimus. 1992. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Departemen Pertanian. Bogor
- Anonimus. 2000. Lengkuas.
http://www.asiamaya.com/jamu/isi/lengkuas_alpiniagalanga.htm
- Anonimus. 2001. Greater Galangale (*Alpinia galanga* (L.) Wild.). http://www-ang.kfunigraz.ac.at/katzer/engl/generic_frame.html?Alpi_gal.html
- Anonimus. 2002. *Alpinia galanga* – Greater Galanga.
<http://www.tropilab.com/galanga.html>
- Anonimus. 2003^a. Listeriosis.
http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/listeriosis_g.htm
- Anonimus. 2003^b. Lengkuas Anti Jamur dan Anti Kembang.
http://www.republika.co.id/suplemen/cetak_detail.asp?mid=2&id=127831&kat_id1=150&kat_id2=187
- Anonimus. 2003^c. *Listeria monocytogenes*.
<http://www.textbookofbacteriology.net/listeria.html>
- Anonimus. 2003^d. Listeriosis.
<http://www.merckvetmanual.com/mum/indexjsp?cfile=htm/bc/51400.htm>
- Bailey, W.R. and E.G. Scott. 1986. Diagnostic Microbiology. 7th Ed. The CV Mosby Company. Saint Louise
- Beisher. 1983. Microbiology In Practice. Individualized Introduction For The Allied Health Science. 3rd Ed. Harper and Row Publisher. New York
- Bonang, G. dan Koeswardono E.S. 1986. Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik. Gramedia. Jakarta

- Chakraborty, T. and Wehland, J. 1997. The House Cell Infected with *Listeria monocytogenes* In House Response to Intracellular Pathogens. Springer. New York. 271-290
- Finegold, S.M. and E.J. Baron. 1986. Diagnostic Microbiology. 7th Ed. McGraw Hill Inc. Oxford. London, Boston
- Hahn, A.B., Robert, L.B., Sandy, J.K.O. 1982. Pharmacology in Nursing. 15th Ed. The CV Mosby Company. London
- Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran Pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya
- Ilmi, T. 1995. Uji Aktivitas Antimikroba *In Vitro* Serum Tikus Putih Setelah Pemberian Infusa Rhizoma *Curcuma domestica* Vall. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya
- Jawetz, E., J.L Mellnick., and E.A. Adelberg. 1986. Review of Medical Microbiology. Fourth Edition. Large Medical Publication. Los Altos. California
- Jawetz, E., J.L Mellnick., and E.A. Adelberg. 2001. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Bahasa Indonesia. Penerbit Salemba Medika. Jakarta
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikrobiologi di Laboratorium. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 67-76
- Maheswari, H. 2002. Pemanfaatan Obat Alami: Potensi dan Prospek Pengembangannya. Tugas Mata Kuliah Falsafah Sains. Institut Pertanian Bogor
- Mitscherlich, E. and Marth, E.H. 1984. Microbial Survival In The Environment. Springer. Berlin. 802
- Muhlisah, F. 2003. Tanaman Obat Keluarga. Penebar Swadaya. Jakarta. 46
- Mursito, B. 2002. Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Malaria. Penebar Swadaya. Jakarta
- Padmawinata, K. 1995. Potensi, Peluang dan Kendala Pengembangan Agroindustri Tanaman Obat. Balitro. Jakarta
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J.C., Leonard, F.C. 2002. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Blackwell Science Ltd.
- Robinson. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB. Bandung

- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press. Surabaya
- Soedibyo, M. 1998. Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan. Balai Pustaka. Jakarta
- Suryanie. 1997. Studi Daya Hambat Cairan Empedu Ayam Terhadap Pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *E. coli* Dalam Upaya Mendapatkan Media Agar Nutrien Yang Selektif Untuk *Staphylococcus aureus* dan Atau *E. coli*. Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar. Universitas Airlangga. Surabaya
- Syamsuhidayat, S.S. dan J.R. Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Syamsuhidayat, S.S. 1994. Perkembangan Penelitian Tumbuhan Obat Indonesia. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII. Bandung
- Timoney, F.J., Gillespie, H.J., Scott W.F., Barlough, J.E. 1988. Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Disease Of Domestic Animals. Comstock Publishing Associates. Ithaca and London
- Trease, G. and Evan. 1978. W.C. Pharmacognocy. Bailer Tindal. London
- Volk, W.A. dan Wheeler, M.F. 1990. Mikrobiologi Dasar. Edisi Kelima. Penerbit Erlangga. Jakarta. 65

Lampiran 1. Komposisi Media Yang Digunakan**A. Formula Blood Agar Base Oxoid** gram per liter

Lab-Lemco Powder	10
Peptone	10
Sodium Chloride	5
Agar	15
PH 7,3 ± 0,2	

B. Formula Mueller Hinton Agar gram per liter

Beef Infusion Form	300
Acidase Peptone	17,5
Starch	1,5
Agar	17

C. Formula Mueller Hinton Broth gram per liter

Beef Infusion Form	300
Acidase Peptone	17,5
Starch	1,5

Lampiran 2. Identifikasi Bakteri

1. Pewarnaan Gram

1. Buat sediaan oles dan fiksasi di atas api hingga kering
2. Warnai dengan kristal violet selama dua menit
3. Buang sisa zat warna dan cuci dengan air kran
4. Tuangkan larutan Lugol, biarkan selama 1 menit
5. Buang sisa Lugol dari obyek glass dengan air
6. Lunturkan dengan Alkohol Aceton 10-20 detik sampai warna hilang
7. Cuci dengan air kran
8. Tuangkan Safranin pada obyek glass, biarkan selama 30 detik
9. Buang Safranin dengan menggunakan air kran
10. Keringkan dengan kertas saring
11. Tetesi sediaan dengan minyak emersi, amati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali

Hasil : Kuman berwarna biru, maka bersifat Gram Positif

2. Uji Gula-gula

Ambil beberapa koloni kuman dari media agar kemudian campurkan pada larutan gula-gula yaitu glukosa, maltosa, ramnosa, dan manitol. Inkubasikan larutan gula-gula pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil : Positif, terjadi perubahan warna pada media menjadi kuning artinya gula difermentasi dengan menghasilkan asam.

3. Uji Urease

Ambil beberapa koloni kuman dari media agar, kemudian *streak* pada urea agar. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil : Negatif, karena tidak terjadi perubahan warna medium menjadi merah ungu yang artinya kuman tersebut tidak menghasilkan enzim urease yang mampu menguraikan urea.

4. Uji Natrium Sitrat

Ambil beberapa koloni kuman dari media agar, kemudian campur pada media Simmons Citrate. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil : Negatif, karena tidak terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru, artinya kuman mampu tidak memanfaatkan natrium sitrat sebagai sumber karbon untuk keperluan hidupnya.

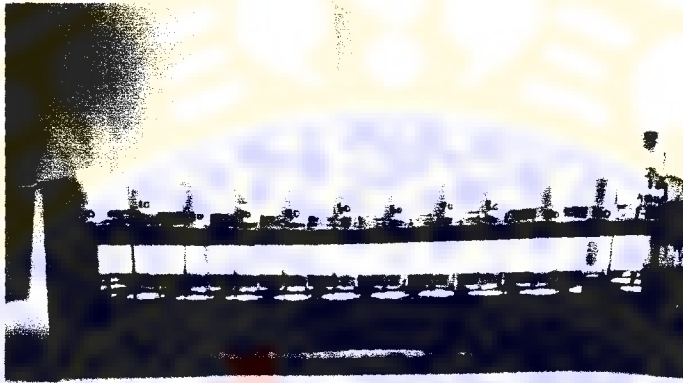
5. Uji Sufide Indol Motility (SIM)

Ambil beberapa koloni kuman dari media agar, kemudian lakukan tusukan hingga ke dasar media SIM, tarik ke permukaan media dan lanjutkan dengan melakukan *streak* pada permukaan media. Inkubasi 37°C selama 24 jam.

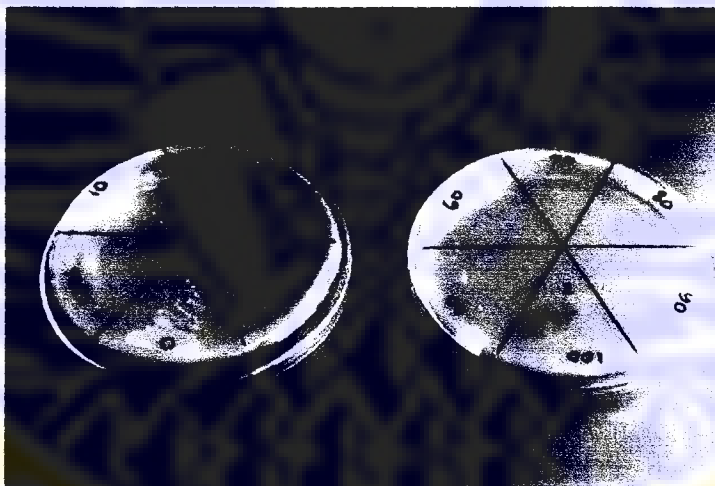
Hasil : - H₂S negatif, tidak terbentuk warna hitam pada media sebagai hasil reaksi

H₂S dengan Fe menjadi FeS

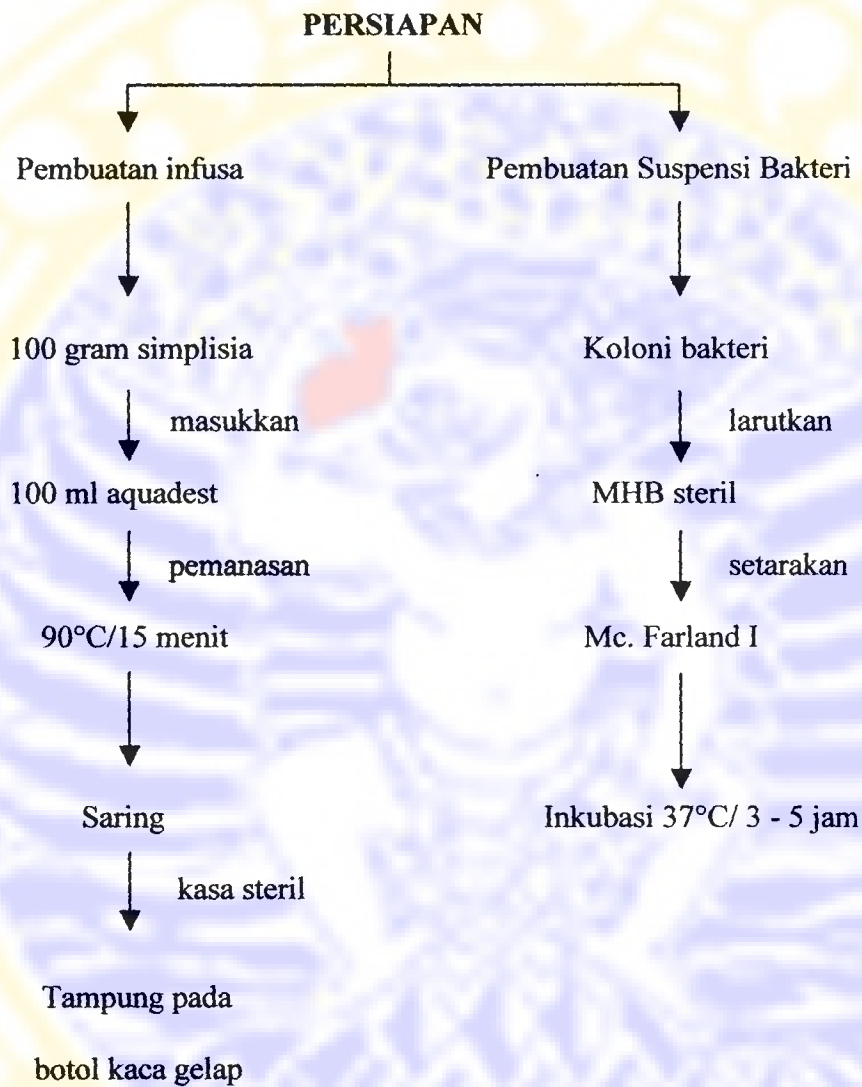
- Indol negatif, tidak terdapat cincin merah pada permukaan media
- Motilitas positif, terlihat adanya penyebaran pertumbuhan kuman pada tempat tusukan.



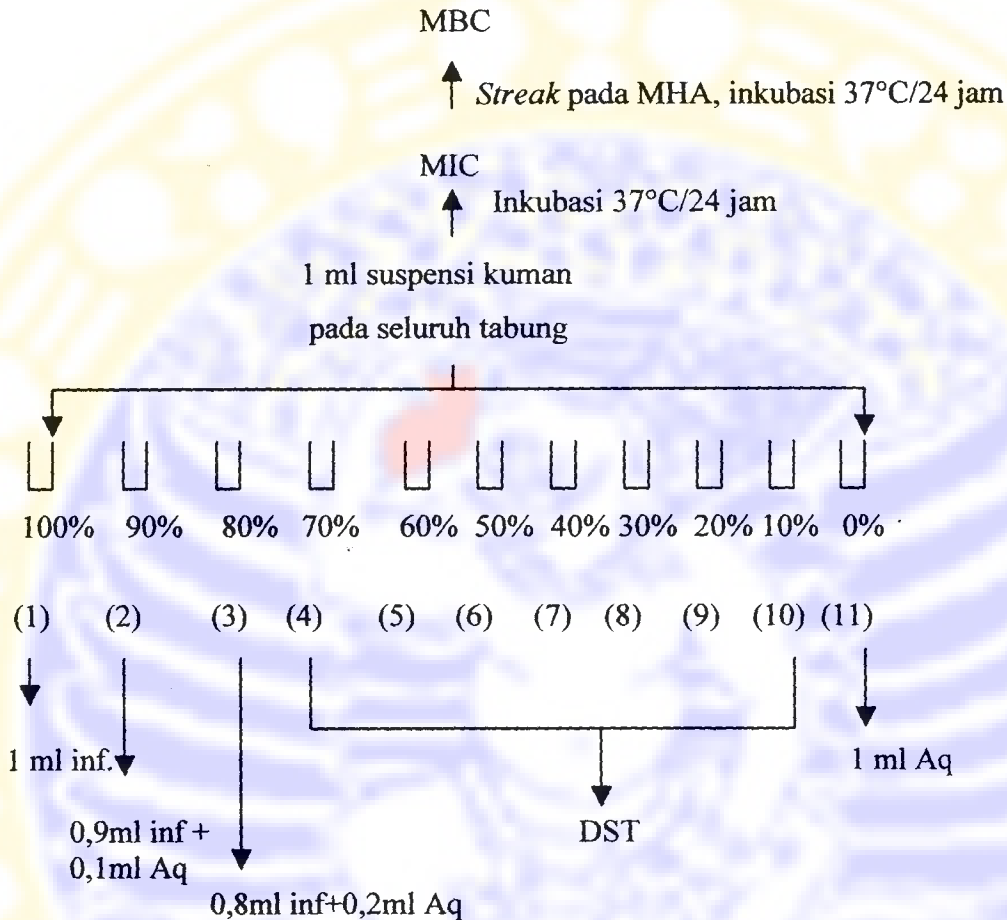
Gambar 3. Hasil MIC Infusa Rimpang Lengkuas setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam



Gambar 4. Hasil MBC Infusa Rimpang Lengkuas pada Media MHA

Lampiran 3. Diagram Alir Persiapan Penelitian

Lampiran 4. Skema Pelaksanaan Penelitian



Keterangan:

1. Konsentrasi 100% : 1 mililiter infusa rimpang lengkuas
2. Konsentrasi 90% : 0,9 mililiter infusa + 0,1 mililiter aquadest
3. Konsentrasi 80% : 0,8 mililiter infusa + 0,2 mililiter aquadest
4. Konsentrasi 70% : 0,7 mililiter infusa + 0,3 mililiter aquadest
5. Konsentrasi 60% : 0,6 mililiter infusa + 0,4 mililiter aquadest
6. Konsentrasi 50% : 0,5 mililiter infusa + 0,5 mililiter aquadest
7. Konsentrasi 40% : 0,4 mililiter infusa + 0,6 mililiter aquadest
8. Konsentrasi 30% : 0,3 mililiter infusa + 0,7 mililiter aquadest
9. Konsentrasi 20% : 0,2 mililiter infusa + 0,8 mililiter aquadest
10. Konsentrasi 10% : 0,1 mililiter infusa + 0,9 mililiter aquadest
11. Konsentrasi 0% : 1 mililiter aquadest

Lampiran 6. Probit

***** PROBIT ANALYSIS *****

DATA Information

33 unweighted cases accepted.
0 cases rejected because of out-of-range group values.
0 cases rejected because of missing data.
3 cases are in the control group.

Group Information

ULANGAN	Level	N of Cases	Label
	1	11	ulangan 1
	2	11	ulangan 2
	3	11	ulangan 3

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

>Warning # 13520
>All the ratios (response count over observation count) adjusted for the
>specified natural response rate are out of range. The plot is skipped.

***** PROBIT ANALYSIS *****

>Warning # 13527
>Parameter estimates did not converge in maximum number of iterations.

Number of iterations = 20
Optimal solution not found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.	
KONS1	.16457	.08813	1.86733	
	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.	ULANGAN
	-4.25921	2.50580	-1.69974	ulangan 1
	-7.57110	4.18701	-1.80824	ulangan 2
	-7.57110	4.18701	-1.80824	ulangan 3

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 1.647 DF = 29 P = 1.000

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

***** PROBIT ANALYSIS *****

Observed and Expected Frequencies

ULANGAN	KONS1	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
1	100.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
1	90.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
1	80.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
1	70.00	1.0	1.0	1.000	1.9229E-13	1.00000
1	60.00	1.0	1.0	1.000	9.8179E-09	1.00000
1	50.00	1.0	1.0	1.000	.000	.99996
1	40.00	1.0	1.0	.990	.010	.98993
1	30.00	1.0	1.0	.751	.249	.75111
1	20.00	1.0	.0	.167	-.167	.16659
1	10.00	1.0	.0	.004	-.004	.00448
1	.00	1.0	.0	.000	.000	.00001
2	100.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
2	90.00	1.0	1.0	1.000	2.2360E-13	1.00000
2	80.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
2	70.00	1.0	1.0	1.000	.000	.99996
2	60.00	1.0	1.0	.989	.011	.98937
2	50.00	1.0	1.0	.745	.255	.74459
2	40.00	1.0	.0	.162	-.162	.16153
2	30.00	1.0	.0	.004	-.004	.00422
2	20.00	1.0	.0	.000	.000	.00001
2	10.00	1.0	.0	1.5580E-09	-1.5580E-09	1.6E-09
2	.00	1.0	.0	1.8504E-14	-1.8504E-14	1.9E-14
3	100.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
3	90.00	1.0	1.0	1.000	2.2360E-13	1.00000
3	80.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
3	70.00	1.0	1.0	1.000	.000	.99996
3	60.00	1.0	1.0	.989	.011	.98937
3	50.00	1.0	1.0	.745	.255	.74459
3	40.00	1.0	.0	.162	-.162	.16153
3	30.00	1.0	.0	.004	-.004	.00422
3	20.00	1.0	.0	.000	.000	.00001
3	10.00	1.0	.0	1.5580E-09	-1.5580E-09	1.6E-09
3	.00	1.0	.0	1.8504E-14	-1.8504E-14	1.9E-14

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective KONS1

ULANGAN 1 ulangan 1

Prob	KONS1	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	11.74471	.	.
.02	13.40111	.	.
.03	14.45204	.	.
.04	15.24261	.	.
.05	15.88569	.	.
.06	16.43304	.	.
.07	16.91296	.	.
.08	17.34268	.	.
.09	17.73349	.	.
.10	18.09323	.	.
.15	19.58264	.	.
.20	20.76639	.	.
.25	21.78193	.	.
.30	22.69392	.	.
.35	23.53902	.	.
.40	24.34093	.	.
.45	25.11679	.	.
.50	25.88035	.	.
.55	26.64391	.	.
.60	27.41977	.	.
.65	28.22168	.	.
.70	29.06678	.	.
.75	29.97877	.	.
.80	30.99431	.	.
.85	32.17805	.	.
.90	33.66747	.	.
.91	34.02721	.	.
.92	34.41802	.	.
.93	34.84773	.	.
.94	35.32766	.	.
.95	35.87501	.	.
.96	36.51808	.	.
.97	37.30866	.	.
.98	38.35959	.	.
.99	40.01599	.	.

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective KONS1

ULANGAN 2 ulangan 2

Prob	KONS1	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	31.86882	.	.
.02	33.52522	.	.
.03	34.57616	.	.
.04	35.36673	.	.
.05	36.00980	.	.
.06	36.55716	.	.
.07	37.03708	.	.
.08	37.46680	.	.
.09	37.85760	.	.
.10	38.21734	.	.
.15	39.70676	.	.
.20	40.89050	.	.
.25	41.90605	.	.
.30	42.81804	.	.
.35	43.66313	.	.
.40	44.46505	.	.
.45	45.24091	.	.
.50	46.00447	.	.
.55	46.76803	.	.
.60	47.54389	.	.
.65	48.34580	.	.
.70	49.19089	.	.
.75	50.10288	.	.
.80	51.11843	.	.
.85	52.30217	.	.
.90	53.79159	.	.
.91	54.15133	.	.
.92	54.54214	.	.
.93	54.97185	.	.
.94	55.45177	.	.
.95	55.99913	.	.
.96	56.64220	.	.
.97	57.43278	.	.
.98	58.48371	.	.
.99	60.14011	.	.

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective KONS1

ULANGAN 3 ulangan 3

Prob	KONS1	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	31.86882	.	.
.02	33.52522	.	.
.03	34.57616	.	.
.04	35.36673	.	.
.05	36.00980	.	.
.06	36.55716	.	.
.07	37.03708	.	.
.08	37.46680	.	.
.09	37.85760	.	.
.10	38.21734	.	.
.15	39.70676	.	.
.20	40.89050	.	.
.25	41.90605	.	.
.30	42.81804	.	.
.35	43.66313	.	.
.40	44.46505	.	.
.45	45.24091	.	.
.50	46.00447	.	.
.55	46.76803	.	.
.60	47.54389	.	.
.65	48.34580	.	.
.70	49.19089	.	.
.75	50.10288	.	.
.80	51.11843	.	.
.85	52.30217	.	.
.90	53.79159	.	.
.91	54.15133	.	.
.92	54.54214	.	.
.93	54.97185	.	.
.94	55.45177	.	.
.95	55.99913	.	.
.96	56.64220	.	.
.97	57.43278	.	.
.98	58.48371	.	.
.99	60.14011	.	.

>Note # 13530

>Estimates of Relative Median Potency are not reported because no log
>transformation is performed.