

**Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol  
*Curcuma xanthorrhiza* dan Bakteriosin *Bifidobacterium  
longum* terhadap *Salmonella typhi***

**SKRIPSI**



**Jessika Ilham**

**31170108**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2021**

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI**  
**SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Jessika Ilham  
NIM : 31170108  
Program studi : Biologi  
Fakultas : Bioteknologi  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (None-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak *Curcuma xanthorrhiza* dan Bakteriosin *Bifidobacterium longum* terhadap *Salmonella typhi*”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta  
Pada Tanggal : 7 Juli 2021

Yang menyatakan



(Jessika Ilham)  
NIM.31170108

**Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol  
*Curcuma xanthorrhiza* dan Bakteriosin *Bifidobacterium  
longum* terhadap *Salmonella typhi***

**SKRIPSI**

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana



**Jessika Ilham**

**31170108**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2021**

## Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

UJI AKTIVITAS DAYA HAMBAT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
*Curcuma xanthorrhiza* DAN BAKTERIOSIN *Bifidobacterium longum*  
TERHADAP *Salmonella typhi*

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

JESSIKA ILHAM  
31170108

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Sains pada tanggal 5 Juli 2021

### Nama Dosen

1. Prof. Dr. drh. A. E. T. H. Wahyuni, M.Si.  
(Ketua Tim Penguji / Dosen Penguji I)
2. drh. Vinsa Cantya P., SKH., M.Sc.  
(Dosen Pembimbing I / Dosen Penguji III)
3. Dr. Charis Amarantini, M.Si.  
(Dosen Pembimbing II / Dosen Penguji II)

### Tanda Tangan

Amenyurin

Fachion  
Djamarah

Yogyakarta, 5 Juli 2021  
Disahkan oleh:

Dekan,



Drs. Kisworo, M.Sc.

Ketua Program Studi,

Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

## LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol *Curcuma xanthorrhiza* dan Bakteriosin *Bifidobacterium longum* terhadap *Salmonella typhi*

Nama Mahasiswa : Jessika Ilham

Nomor Induk Mahasiswa : 31170108

Hari/Tgl. Ujian : Senin, 5 Juli 2021

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

(drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH., M.Sc.)  
NIK: 204 E 539

Pembimbing Pendamping,

(Dr. Charis Amarantini, M.Si.)  
NIK: 914 E 155

Ketua Program Studi

(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.)  
NIK: 884 E 075

## LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Jessika Ilham

NIM : 31170108

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

**“Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol *Curcuma xanthorrhiza* dan Bakteriosin *Bifidobacterium longum* terhadap *Salmonella typhi”***

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 24 Juni 2021



(Jessika Ilham)

NIM : 31170108

## **KATA PENGANTAR**

Puji dan syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas kasih setia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan naskah skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol *Curcuma xanthorrhiza* dan Bakteriosin *Bifidobacterium longum* terhadap *Salmonella typhi*” dengan baik. Penelitian dan penyusunan naskah skripsi dapat diselesaikan dengan baik karena mendapatkan banyak dukungan oleh berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis ingin mengucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu, membimbing dan mendukung penulis.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. drh. Vinsa Cantya P., SKH., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing I dan Dr. Charis Amarantini, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu dan menerahkan tenaga untuk mengarahkan serta membimbing penulis sehingga penelitian dapat terselesaikan dengan baik.
2. Prof. Dr. drh. A.E.T.H Wahyuni, M.Si. selaku Dosen Pengaji.
3. Seluruh dosen atas ilmu dan bimbangannya selama proses perkuliahan.
4. Kedua orang tua, saudara dan keluarga besar yang selalu membantu, memberikan semangat, dukungan doa serta material.
5. Abigail Nyoto, Fransiska Thea dan Jade Septhimoranie selaku teman-teman sepenanggungan dalam penelitian.
6. Gustin Finnegan selaku sahabat yang bersedia membantu, memotivasi, memberikan dukungan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan.

Penulis menyadari bahwa naskah skripsi masih terdapat kekurangan dan jauh dari sempurna. Oleh sebab itu, kritik dan saran sangat diharapkan. Akhir kata, semoga naskah skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi pembaca.

Yogyakarta, 24 Juni 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN .....	i
HALAMAN JUDUL BAGIAN DALAM .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN TIM PENGUJI .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI .....	iv
LEMBAR PERNYATAAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
ABSTRAK .....	xvii
ABSTRACT .....	xviii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1    Latar Belakang .....	1
1.2    Rumusan Masalah .....	2
1.3    Hipotesis .....	3
1.4    Tujuan Penelitian .....	3
1.5    Manfaat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1    Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> ) .....	5
2.1.1    Klasifikasi Ilmiah .....	5
2.1.2    Morfologi .....	5
2.1.3    Manfaat dan Kandungan Fitokimia Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> ) .....	5
2.2 <i>Bifidobacterium longum</i> .....	7
2.2.1    Klasifikasi Ilmiah .....	7
2.2.2    Morfologi .....	7
2.2.3    Kemampuan Daya Hambat Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> ...	7
2.3 <i>Salmonella typhi</i> .....	8

2.3.1 Klasifikasi Ilmiah.....	8
2.3.2 Morfologi .....	9
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>10</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	10
3.2 Alat .....	10
3.3 Bahan.....	10
3.4 Cara Kerja.....	11
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	11
3.4.2 Ekstraksi Temulawak.....	11
3.4.3 Uji Kualitatif Fitokimia Temulawak.....	12
3.4.4 Uji Kuantitatif Total Fenol.....	13
3.4.5 Peremajaan Isolat <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210 dan <i>Salmonella typhi</i> .....	15
3.4.6 Uji Konfirmasi Isolat Bakteri.....	15
3.4.7 Persiapan <i>Cell Free Culture Supernatant</i> (CFCS) .....	17
3.4.8 Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Aktivitas daya hambat ekstrak etanol temulawak terhadap <i>Salmonella typhi</i> .....	17
3.4.9 Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Aktivitas Daya Hambat Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210 terhadap <i>Salmonella typhi</i> .....	20
3.4.10 Aktivitas daya hambat kombinasi ekstrak temulawak dan bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i> .21	21
3.5 Analisis Data .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>23</b>
4.1 Ekstraksi dan <i>Screening</i> Fitokimia <i>Curcuma xanthorrhiza</i> .....	23
4.2 Uji Kuantitatif Total Fenol <i>Curcuma xanthorrhiza</i> .....	26
4.3 Konfirmasi Strain Bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	29
4.4 Konfirmasi Strain Bakteri <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210.....	30
4.5 Uji Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Temulawak terhadap <i>Salmonella typhi</i> .....	32
4.6 Uji Aktivitas Daya Hambat Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i>	

terhadap <i>Salmonella typhi</i> .....	41
4.7 Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Temulawak dan Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> .....	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
5.1    Kesimpulan.....	56
5.2    Saran .....	56
DAFTAR PUSTAKA .....	57
LAMPIRAN .....	63

©CUKDW

## DAFTAR TABEL

<b>Nomor Tabel</b>	<b>Judul Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1	Uji Screening Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Temulawak Secara Kualitatif	24
4.2	Hasil Pengukuran <i>Optical Density</i> Larutan Standar Asam Galat pada Panjang Gelombang 765 nm dengan Spektrofotometer Uv-Vis	27
4.3	Kandungan Total Fenol Ekstrak Etanol Temulawak yang Terukur Secara Kuantitatif	29
4.4	Aktivitas dan Kategori Daya Hambat Ekstrak Etanol Temulawak terhadap pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i>	33
4.5	Nilai <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> pada Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Temulawak Berdasarkan Uji <i>Microdilution</i>	35
4.6	Aktivitas dan Kategori Daya Hambat Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210 terhadap Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i>	41
4.7	Nilai <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> pada Variasi Konsentrasi Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210 Berdasarkan Uji <i>Microdilution</i>	43
4.8	Nilai <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> pada Perbandingan Volume dan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Etanol	48

	Temulawak dan Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> Berdasarkan Uji <i>Microdilution</i>	
4.9	Perbandingan Nilai <i>Optical Density</i>	53
	Pertumbuhan <i>Salmonellla typhi</i> pada Perlakuan Kombinasi, Ekstrak Etanol Temulawak dan Bakteriosin Tunggal Terbaik Berdasarkan Uji <i>Microdilution</i>	

©CUKDW

## DAFTAR GAMBAR

<b>Nomor Gambar</b>	<b>Judul Gambar</b>	<b>Halaman</b>
4.1	Hubungan Antara Konsentrasi dan <i>Optical Density</i> Larutan Standar Asam Galat	28
4.2	Konfirmasi Strain <i>Salmonella typhi</i>	30
4.3	Konfirmasi Strain <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210	32
4.4	Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Temulawak terhadap Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> dengan Metode Difusi Cakram	33
4.5	Grafik Penurunan Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella typhi</i> pada Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Temulawak dengan Metode <i>Microdilution</i>	35
4.6	Perbandingan Hasil <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> terhadap Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Temulawak dengan Kontrol Negatif dan Positif	39
4.7	Aktivitas Daya Hambat Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210 terhadap Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> dengan Metode Difusi Cakram	42
4.8	Grafik Penurunan Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella typhi</i> pada Variasi Konsentrasi Bakteriosin dengan Metode <i>Broth Micro-dilution</i>	43

4.9	Perbandingan Hasil <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> terhadap Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> pada Berbagai konsentrasi bakteriosin dengan kontrol positif dan negatif	46
4.10	Diagram Batang Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> pada Perbandingan Voyme dan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Etanol Temulawak dan Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> Berdasarkan Uji <i>Microdilution</i>	50
4.11	Perbandingan Hasil <i>Minimum Bacterisidal Concentration</i> terhadap Pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> pada Perbandingan Volume dan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Temulawak & Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> dengan Kontrol Positif dan Negatif	52
4.12	Diagram Batang Perbandingan Nilai <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>Salmonellla typhi</i> pada Perlakuan Kombinasi, Ekstrak Etanol Temulawak dan Bakteriosin Tunggal	54

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Nomor Lampiran</b>	<b>Judul Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1	Surat Determinasi Tanaman Temulawak <i>(Curcuma xanthorrhiza)</i>	63
2	Sertifikat Isolat <i>Salmonella typhi</i>	64
3	Sertifikat Isolat <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210	65
4	Uji Total Fenol Ekstrak Etanol Temulawak	66
5	Hasil Uji <i>Broth Microdilution</i> Penghambatan Ekstrak Etanol Temulawak terhadap <i>Salmonella typhi</i>	67
6	Hasil Uji <i>Broth Microdilution</i> Penghambatan Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	68
7	Hasil Uji <i>Broth Microdilution</i> Penghambatan Kombinasi Ekstrak Etanol Temulawak dan Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	69
8	Akitvititas Daya Hambat Ekstrak Etanol <i>Curcuma xanthorrhiza</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	70
9	Uji <i>Microdilution</i> Ekstrak etanol <i>Curcuma xanthorrhiza</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	71
10	Akitvititas Daya Hambat Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	71

11	<i>Broth Microdilution</i> Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	72
12	<i>Broth Microdilution 96-well microplate</i> Kombinasi Ekstrak Etanol <i>Curcuma xanthorrhiza</i> dan Bakteriosin <i>Bifidobacterium longum</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	73
13	Analisa Statistik Normalitas Distribusi Data <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> pada senyawa ekstrak, bakteriosin dan kombinasi keduanya	73
14	Analisa Statistik Perbedaan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Senyawa Ekstrak Etanol Temulawak dengan Kontrol Positif	74
15	Analisa Statistik Perbedaan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Senyawa Ekstrak Etanol Temulawak dengan Kontrol Negatif	75
16	Analisa Statistik Perbedaan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Senyawa Bakteriosin dengan Kontrol Positif	77
17	Analisa Statistik Perbedaan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Senyawa Bakteriosin dengan Kontrol Negatif	79
18	Analisa Statistik Perbedaan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Kombinasi dengan Kontrol Positif	81

19	Analisa Statistik Perbedaan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Kombinasi dengan Kontrol Negatif	82
20	Analisa Statistik Perbandingan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Kombinasi 1:1 dengan Ekstrak Etanol Temulawak Tunggal	83
21	Analisa Statistik Perbandingan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Kombinasi 2:1 dengan Ekstrak Etanol Temulawak Tunggal	83
22	Analisa Statistik Perbandingan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Kombinasi 1:1 dengan Bakteriosin Tunggal	84
23	Analisis Statistik Perbandingan Rata-Rata <i>Optical Density</i> Pertumbuhan <i>S.typhi</i> Antara Kombinasi 2:1 dengan Bakteriosin Tunggal	85

## ABSTRAK

### **Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Curcuma *xanthorrhiza* dan Bakteriosin *Bifidobacterium longum* terhadap *Salmonella typhi***

JESSIKA ILHAM

Temulawak merupakan salah satu kekayaan biodiversitas tumbuhan herbal yang terbukti bersifat antimikrobia. Bakteriosin dari BAL telah dimanfaatkan sebagai *bio-preservative* karena kandungannya yang bersifat aantimikrobia sehingga mampu menghambat bakteri pembusuk makanan dan patogen lainnya. Kombinasi kedua senyawa antimikrobia tersebut dapat menjadi perpaduan yang baik sebagai agen biokontrol bakteri patogen penyebab *foodborne disease*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa antibakteri dari ekstrak etanol temulawak yang berperan dalam menghambat bakteri *S.typhi*, mengetahui daya hambat yang dihasilkan oleh bakteriosin *B.longum* terhadap *S.typhi* dan menganalisis efektivitas daya hambat dari uji kombinasi dengan agen antibakteri tunggal. Penelitian diawali dengan *screening* fitokimia ekstrak temulawak, isolasi bakteriosin *B.longum* dengan metode CFCS, uji difusi cakram, *Minimum Inhibitory Concentration* dan *Minimum Bactericidal Concentration*. Aktivitas daya hambat dari perlakuan masing-masing terekspresikan dengan diameter zona hambat pada uji difusi, *optical density* pertumbuhan *S.typhi* pada uji MIC dan *screening* ada/tidaknya pertumbuhan *S.typhi* pada uji MBC. Ekstrak etanol temulawak teridentifikasi mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, terpenoid dan fenol sebagai senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri tersebut berperan dalam menghambat dan meniadakan bakteri *S.typhi* pada konsentrasi minimal 12.5 % (v/v). Senyawa bakteriosin *B.longum* memberikan penghambatan yang efektif pada konsentrasi 50%. Pada kombinasi antara ekstrak dan bakteriosin didapati adanya penghambatan tertinggi bahkan meniadakan bakteri *S.typhi* pada perbandingan konsentrasi dalam kombinasi 50% : 100% pada volume 1:2 dan 2:1 (ekstrak:bakteriosin (v/v)). Baik pada ekstrak etanol temulawak dan bakteriosin *B.longum* tunggal serta kombinasi keduanya didapati adanya aktivitas penghambatan terhadap *S.typhi*. Pada perlakuan kombinasi terbukti lebih efektif dalam meniadakan pertumbuhan *S.typhi* ( $p<0.05$ ).

Kata kunci : *Salmonella typhi*, temulawak, *B.longum*, antibakteri, daya hambat

## ABSTRACT

### **Antibacterial Activity of *Salmonella typhi* in Combination of *Curcuma xanthorrhiza* Ethanol Extract and Bacteriocin Produced by *Bifidobacterium longum* in Vitro**

JESSIKA ILHAM

Curcuma is a part of the variety of herbal plants that have been shown the antibacterial property. Because of their antibacterial activities, LAB bacteriocins have been employed as bio-preservatives to suppress food spoilage bacteria. The two antibacterial agents combination can be an excellent bio-control agent for pathogenic bacteria that cause foodborne disease. The aim of this study is to identify antibacterial compounds in the Curcuma ethanol extract that inhibit *S.typhi*, to determine the inhibitory activity of *B.longum* bacteriocins against *S.typhi*, and to analyze the effectiveness of the inhibition in the combination with a single antibacterial agent. This study began with Curcuma extract preliminary phytochemical, isolation of *B.longum* bacteriocin by the CFCS method, disc diffusion test, MIC test, and MBC test. Curcuma ethanol extract contained alkaloids, saponins, flavonoids, terpenoids, and phenols as antibacterial compounds. These antibacterial compounds help to inhibit and kill *S.typhi* in 12.5 % (v/v) of extract. 50% of bacteriocin compounds provide effective inhibition. A combination of Curcuma extract and bacteriocin with a concentration ratio of 50: 100 % at volume 1:2 and 2:1 (extract: bacteriocin (v/v)) was shown with the strongest inhibition and even kill *S.typhi*. Both the Curcuma ethanol extract and *B. longum* bacteriocin alone and in combination were reported to have inhibitory activity against *S.typhi*, although the combination treatment was more effective in reducing the growth of *S.typhi* ( $p<0.05$ ).

Keywords : *Salmonella typhi*, Curcuma, *B.longum*, antibacterial, inhibitory

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Temulawak merupakan salah satu kekayaan biodiversitas tumbuhan herbal yang sudah dikenal oleh masyarakat. Tumbuhan ini telah dipercaya berkhasiat dalam menyembuhkan berbagai penyakit seperti memelihara fungsi hati, melancarkan pencernaan, meredakan nyeri tulang dan sendi, menurunkan lemak dalam darah serta menghambat penggumpalan darah. Ketersediaannya yang banyak, mudah didapatkan dan harga yang lebih terjangkau menjadikan tumbuhan temulawak sebagai aset yang harus dimanfaatkan dan dibudidaya dengan baik. Beragam fitokimia yang terkandung pada temulawak memberikan efek farmakologi yaitu *antiinflamatory, antioxidants, antibacterial, antifungal, antiicandida dan anticancer* (Kustina *et al.*, 2020). Penelitian Prakasita *et al.*, (2020) membuktikan bahwa ekstrak etanol temulawak mampu menghambat bahkan meniadakan pertumbuhan *Salmonella enteritidis* pada uji antibakteri, dengan dicapainya nilai OD pertumbuhan bakteri sebesar  $0.00\pm0.00$  pada konsentrasi 1,56-25% ekstrak etanol temulawak.

Beberapa peneliti telah mengembangkan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang telah dikenal menjadi bakteri menguntungkan bagi manusia sebagai agen biokontrol terhadap bakteri patogen. Salah satu jenis BAL tersebut adalah *Bifidobacterium longum*. *Bifidobacterium longum* Pada review yang telah dilakukan oleh Arboleya *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa *B.longum* dijumpai pada seluruh rentang usia dari bayi, dewasa sampai usia lanjut. Turroni *et al.*, (2009) membuktikan bahwa berdasarkan hasil analisis filogenetik didapati sebesar 63% dari total isolat genus *Bifidobacterium* pada sampel feses bayi dan mukosa biopsi orang dewasa tergolong *Bifidobacterium longum* subsp *longum*. Penelitian Abd El-Salam

*et al* (2004), menunjukkan adanya aktivitas penghambatan oleh senyawa antimikrobia bakteriosin yang dihasilkan dari *Bifidobacterium longum* dan *Bifidobacterium lactis* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* dan *Escherichia coli*.

Kombinasi antara herbal dan senyawa bakteriosin diduga dapat memberikan solusi yang baik dalam menekan mikrobia patogen penyebab *foodborne disease*. Adapun secara umum penyakit tersebut diobati dengan antibiotik, namun seiring berjalannya waktu sudah tidak menjadi efektif. Maka dari itu, pemanfaatan tumbuhan herbal dan senyawa antimikrobia bakteriosin dari probiotik dapat menjadi solusi dari permasalahan tersebut. Penelitian uji kombinasi tersebut telah didapati belum banyak diteliti sehingga dapat memberikan pembaharuan pada penelitian. Oleh sebab itu, peneliti ingin menguji kemampuan daya hambat dari kombinasi senyawa antimikrobia antara ekstrak etanol temulawak dan bakteriosin *Bifidobacterium longum* FNCC 0210 terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun pada penelitian ini memiliki rumusan masalah yang terdiri dari,

- 1.2.1 Apa saja senyawa fitokimia yang terkandung di dalam ekstrak etanol temulawak yang memiliki sifat antibakteri?
- 1.2.2 Berapa konsentrasi ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) tunggal yang memberikan penghambatan terbaik terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*?
- 1.2.3 Berapa konsentrasi bakteriosin *Bifidobacterium longum* FNCC 0210 tunggal yang memberikan penghambatan terbaik terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*?
- 1.2.4 Berapa konsentrasi dan perbandingan volume dari kombinasi ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan bakteriosin *Bifidobacterium longum* FNCC 0210 yang mampu bersinergi dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*?

### **1.3 Hipotesis**

Pada penelitian ini, hipotesis yang akan diuji adalah Kombinasi antara ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan bakteriosin *Bifidobacterium longum* FNCC 0210 mampu bersinergi dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan kemampuan menghambatnya lebih baik dibandingkan dengan senyawa tunggal dari ekstrak temulawak dan bakteriosin *Bifidobacterium longum* FNCC 0210.

### **1.4 Tujuan Penelitian**

Penelitian dilakukan dengan tujuan,

**1.4.1** Mengidentifikasi kandungan fitokimia dari ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang memiliki sifat antibakteri.

**1.4.2** Mengetahui konsentrasi dari ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) tunggal yang memberikan penghambatan terbaik terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

**1.4.3** Mengetahui konsentrasi dari senyawa bakteriosin *Bifidobacterium longum* FNCC 0210 tunggal yang memberikan penghambatan terbaik terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

**1.4.4** Menganalisis formulasi konsentrasi dan perbandingan volume dari kombinasi ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan bakteriosin *Bifidobacterium longum* FNCC 0210 yang bersinergi dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang dapat diperoleh melalui penelitian ini antara lain,

**1.5.1** Memberikan informasi dan wawasan kepada masyarakat mengenai potensi serta manfaat baik dari ekstrak temulawak sebagai tanaman obat.

**1.5.2** Memberikan informasi ilmiah kepada industri farmasi terkait potensi ekstrak etanol temulawak yang berperan sebagai agen antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga harapannya penggunaan temulawak dapat lebih ditingkatkan.

- 1.5.3** Memberikan informasi ilmiah kepada industri farmasi sehingga dapat mengembangkan bakteriosin sebagai salah satu senyawa antimikrobia yang efektif melawan bakteri patogen.
- 1.5.4** Memberikan pembaharuan penelitian sehingga dapat menambahkan ide kepada peneliti lain untuk mengembangkan senyawa antimikrobia dari kombinasi ekstrak tumbuhan herbal dan bakteri asam laktat sebagai agen biokontrol terhadap mikrobia patogen.

©CUKDW

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

- 5.1.1 Ekstrak etanol *Curcuma xanthorrhiza* terbukti mengandung senyawa fitokimia aktif alkaloid, saponin, fenol, terpenoid dan flavonoid yang berperan sebagai antibakteri.
- 5.1.2 Ekstrak etanol temulawak tunggal pada konsentrasi 6.25 % efektif memberikan penghambatan pertumbuhan *Salmonella typhi* berdasarkan uji MIC dan 12.5 % (v/v) ekstrak efektif meniadakan bakteri *Salmonella typhi* pada uji MBC.
- 5.1.3 Bakteriosin *Bifidobacterium longum* tunggal pada konsentrasi 50 (%) (v/v) terbukti efektif memberikan penghambatan pertumbuhan *Salmonella typhi* pada uji MBC.
- 5.1.4 Pada uji formulasi kombinasi yang efektif dalam meniadakan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yaitu formulasi konsentrasi 50%:100% serta perbandingan volume 1:1, dan 2:1 (ekstrak : bakteriosin (v/v)).

#### 5.2 Saran

- 5.2.1 Hasil uji *Minimum Bactericidal Concentration* dapat dikembangkan lebih lanjut pada uji perhitungan koloni (CFU) sehingga dapat dilakukan kalkulasi jumlah koloni yang mampu bertahan hidup setelah dipaparkan senyawa antibakteri.
- 5.2.2 Penelitian yang telah dilakukan secara *in vitro* dapat dikembangkan menjadi uji *in vivo* dengan uji pre klinis dari kombinasi senyawa ekstrak etanol temulawak dan bakteriosin *Bifidobacterium longum*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Salam, M. H., Saleh, F. A., Kholif, A. M., El-Sayed, E. M., Abdou, S. M., & El-Shibiny, S. (2004). Isolation and characterization of bacteriocins produced by *Bifidobacterium lactis* BB-12 and *Bifidobacterium longum* BB-46. In *In 9th Egyptian conference for dairy science and technology*, Cairo, Egypt.
- Adila, R., Nurmiati, & Agustien, A. (2013). Uji antimikroba *Curcuma spp.* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J Bio UA)*, 2(1), 1-7.
- Amarantini, C., Satwika, D., Budiarso, T.Y., Yunita, E.R., dan Laheba, E.A. (2019). Screening of Antimicrobial-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Fish Fermentation Against Pathogenic Bacteria. *Journal of Physics: Conference Series*, 1397, hlm 1 – 9.
- Amarantini, C., Budarso, T. Y., Antika, Y. E., dan Prakasita, V. C. (2020). Characterisation of *Lactobacillus plantarum* isolated from pickled cucumber, and its antagonist effect on pathogenic bacteria. *International Food Research Journal*, 27 (5), 805 – 813.
- Arboleya, S., Watkins, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2016). Gut Bifidobacteria Populations in Human Health and Aging. *Front. Microbiol*, 7, 1-9.
- Ariyanti, Tati dan Supar. (2018). Probelamtik Salmonellosis pada Manusia. *Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian*, 161-171.
- Arvinandita A. 2019. Potensi Berbagai Ekstrak Tanaman Kelas Magnoliopsida sebagai Agen Antibakteri pada Sediaan Foot Lotion Pencegah Bau Kaki [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.
- Arsa, A.K. & Achmad, Z. (2020). Ekstraksi Minyak Atsiri dari Rimpang Temu Ireng (*Curcuma eruginosa Roxb*) dengan Pelarut Etanol dan N-Hexana. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 13 (1), 83 – 94.

- Baloch, M. N., Siddiqi, R., Erum, H. and Zia, M. (2015). Exploration of probiotic potential in indigenous lactic acid bacteria. *International Journal of Current Research* 7(3): 13431-13436.
- Basri, D. F., and Sandra, V., 2016. Synergistic Interaction of Methanol Extract from Canarium odontophyllum Miq. Leaf in Combination with Oxacillin against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 33591. *International Journal of Microbiology*, 1-7.
- Batt, C.A. & Tortorello, M.-L. (2014). *Encyclopedia Food Microbiology II*. USA: Elsevier.
- Boleng, Didimus Tanah. (2015). *Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar*. Malang: Univeritas Muhammadiyah Malang. Hlm 45 – 47.
- Bolouri, M., Sadiki, M., dan Ibnsouda, K. S. (2015). Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, hlm 1 – 10.
- Brown A. (2011). Benson: Microbiological Application Lab Manual Eight Edition. *The McGraw-Hill Companies*.
- C. M. Ejikeme, C. S. Ezeonu, and A. N. Eboatu. (2014). Determination Of Physical And Phytochemical Constituents Of Some Tropical Timbers Indigenous To Niger Delta Area Of Nigeria. *European Scientific Journal*, 10 (18), 247–270.
- Cita, Y. P. (2011). Bakteri *Salmonella typhi* dan Demam Tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 6(1), 42-46.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard ninth edition. 32(2):52
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.
- Deshmukh, P. V., & Thorat, P. R. (2013). Isolation And Extraction Of Bacteriocins Produced By Lactic Acid Bacteria Isolated From Raw Milk Samples. *Indian Streams Research Journal*, 9(3), 1-7.

- Dicky, A., & Apriliana, E. (2016). Efek Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* secara In Vitro. *JK Unila*, 1(2), 308-312.
- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang diEkstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3): 165–172.
- H, Tri Saptari, Triastinurmiantiningsih, S, Bina Lohita dan Sayyidah, I.N. (2019). Kadar Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumput Laut Coklat (*Padina australis*). *Fitofarmaka*, 9 (1), hlm 1 - 8.
- Hadi Devy Kartika, Erina, Rinidar, Fakhurrazi, Rosmaidar, dan Arman Sayuthi. (2019). Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Pertumbuhan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*; 2, 87–97.
- Halim, M. R., Tan, M. S., Ismail, S., & Mahmud, R. (2012). Standardization And Phytochemical Studies Of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 606-610.
- Hart, H., L.E. Craine, dan D.J. (2003). Hart. *Kimia Organik*. Jakarta: Erlangga. hlm. 65-82.
- Haryati, N.A., Saleh, C., dan Erwin. (2015). Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucu merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal Kimia Mulawarman*, 13 (1), hlm 35 - 40.
- Hassan M, Javadzadeh Y, Lotfipour F, Badomchi R. (2011). Determination of Comparative Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Bacteriocins Produced by Enterococci For Selected Isolates Of Multi-Antibiotic Resistant *Enterococcus* spp. *Adv Pharm Bull*, 1(2),75-9.
- Hwang JK, Shim JS, Pyun YR. (2000). Antibacterial activity of xanthorrhizol from *Curcuma xanthorrhiza* against oral pathogens. *Fitoterapia*., 71: 321–3.
- Johanesen, P.A.; Mackin, K.E.; Hutton, M.L.; Awad, M.M.; Larcombe, S.; Amy, J.M.; Lyras, D. (2015). Disruption of the Gut Microbiome: Clostridium difficile Infection and the Threat of Antibiotic Resistance. *Genes.*, 6, 1347–1360.

- Kustina, E., Zulharmita, & Misfadila, S. (2020). Traditional uses, Phytochemistry and Pharmacology of Curcuma xanthorrhiza Roxb.: A Review. *International Journal of Science and Healthcare Research*, 5(3), 494-500.
- Landau, Sabine & Everitt, B.S. (2004). *A Handbook of Statistical Analyses Using SPSS*. London: Chapman & Hall/CRC Press.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko and Jack Parker. 2000. *Brock Biology of Microorganisms*. New Jersey: Prentice Hall.
- Marjoni M.R., Afrinaldi, dan Novita A.D. 2015. Kandungan Total Fenol dan AKtivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*). *Jurnal Kedokteran YARSI*; 23: 187–196.
- Martinez, F.A.C., Eduardo, M.B., Attilio, C., Paul, D.C., dan Ricardo, P.S.O. (2013). Bacteriocin Production by *Bifidobacterium* spp. A Review. *Biotechnology Advances*, 31, hlm 482 - 488.
- Masyithah, N.Z, Herman dan Rijai, L. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar (*Lawsonia Inermis L.*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1 (1), 21 - 28.
- Megawati, A., & Yuliana, S. (2019). Uji Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Wistar yang Diinduksi Potassium Oksonat Secara In Vivo. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 3(2), 85-95.
- Meteab, B.K dan Abed, A.A. (2018). Isolation and identification of *Salmonella* serotypes in poultry. *Al-Sadisyah Journal od Veterinary Medicine Sciences*, 16 (3), 75 - 80
- Meutia, Y. R. (2011). Bakteriosin: Pengawet Alami Asal Bakteri Asam Laktat. Klasifikasi, Teknik Skrining dan Purifikasi serta Peluang Aplikasinya pada Industri Pangan. *Warta IHP*, 28(1), 38-49.
- Muharrami, L. K., Munawaroh, F., Ersam, T., & Santoso, M. (2020). Phytochemical Screening Of Ethanolic Extract: a Preliminary Test on Five Medicinal Plants on Bangkalan. *Jurnal Pena Sains*, 7(2), 96-102.
- Musa, D.A., Yusuf, G.O., Ojogbne, E.B. dan Nwodo, O.F.C. (2010). Screening of Eight Plants Used in Folkloric Medicine for the Treatment of Typhoid Fever. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2 (4), 7 - 15.
- Praja, D. (2011). *The Miracle of Probiotics*. Yogyakarta: Diva Press.
- Prakasita, V. C., Asmara, W., Widyarini, S., & Wahyuni, A. E. (2019). Combinations of herbs and probiotics as an alternative growth promoter: An in vitro study. *Veterinary World*, 12, 614-620.

- Prakasita, V. C., & Wahyuni, A. E. (2020). In Vitro Study: Combination of Herbs and Probiotics as A Alternative. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, 7(8), 198-201.
- Putri, I., Jannah, S.N, dan Purwantisari, S. (2020). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from *Apis mellifera* and Their Potential as Antibacterial Using in Vitro Test Against Growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 3 (1), 26 - 34.
- Rahminiati, M., Rahmatullah, S., Batubara, I., & Achmadi, S. S. (2014). Potensi Ekstrak Rimpang Kunyit Sebagai Prebiotik Pemacu Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(1), 37-42.
- Riley, M. & Chavan, M. (2007). *Bacteriocins: Ecology and Evolution*. 1st ed. Heidelberg: Springer.
- Rukmana, R. (2004). *Temu-temuan Apotik Hidup di Perkarangan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Saleh, F. A., & Elham, M. E.-S. (2005). Isolation and Characterization of Bacteriocins Produced by *Bifidobacterium lactis* Bb-12 and *Bifidobacterium longum* Bb-46. *Conference of Dairy Science&Technology*, 1-14.
- Sari, N., Abrar, M., Wardani, E., Fakhrurrazi, & Daud, R. (2018). Isolasi dan Identifikasi Salmonella Sp dan Shigella Sp PADA Feses Kuda Bendi di Bukittinggi Sumatera Barat. *JIMVET*, 2(3), 402-410.
- Sam S., Malik A., dan Handayani S. (2016). Penetapan Kadar Fenolik Total dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (*Hibiscus sabdariffa L.*) dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka, Indonesia*; 3: 187–187.
- Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., dan Madigan, J. M . (2013). Analisis reedmen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut (*Tetraselmis chui*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2 (2), hlm 121-126.
- Srutkova, D., Schwarzer, M., Hudcovic, T., Zakostelska, Z., Drab, V., Spanova, A., . . . Schabussova, I. (2015). *Bifidobacterium longum* CCM 7952 Promotes Epithelial Barrier Function and Prevents Acute DSS-Induced Colitis in Strictly Strain-Specific Manner. *PLOS ONE*, 1-20.
- Turroni, F., Foroni, E., Pizzetti, P., Giubellini, V., Ribbera, A., Merusi, P., . . . Ventura, M. (2009). Exploring the Diversity of the Bifidobacterial Population in the Human Intestinal Tract. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 75(6), 1534-1545.

- Ugboko, H., & De, N. (2014). Mechanisms of Antibiotic Resistance *Salmonella typhi*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 461-476.
- Widyadnyana, D. G., Sukrama, I. D., & Suardana, I. W. (2015). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S rRNA. *Jurnal Sain Veteriner*, 33(2), 228-233.
- Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Kusuma, F.A., dan Wijaya, E.V. (2014). Difference of Solvent Polarity to Phytochemical Content and Antioxidant Activity of *Pluchea Indicia* Less Leaves Extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6 (4), 850 - 855.
- Zam, W. (2018). Gut Microbiota as a Prospective Therapeutic Target for Curcumin: A Review of Mutual Influence. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2018, 1-11.