

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI DAN KONSENTRASI TERHADAP
AKTIVITAS JAHE MERAH (*Zingiber officinale var rubrum*)
SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli***



SKRIPSI

oleh :

**DEA ALVICHA PUTRI
A1F010005**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA
JURUSAN PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS BENGKULU
2014**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI DAN KONSENTRASI TERDAHAP
AKTIVITAS EKSTRAK JAHE MERAH (*Zingiber officinale var.rubrum*)
SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli***

SKRIPSI

OLEH :

**DEA ALVICHA PUTRI
A1F010005**

Disahkan Oleh :

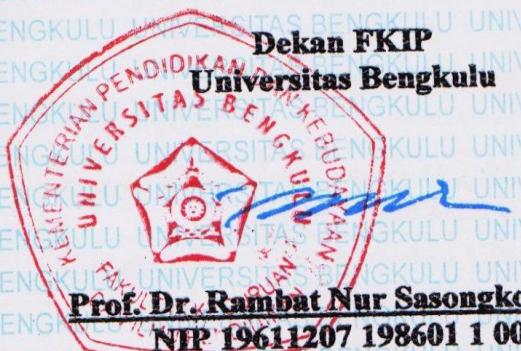
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

**Ketua Jurusan PMIPA-FKIP
Universitas Bengkulu**

**Dekan FKIP
Universitas Bengkulu**

**Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd
NIP 19611207 198601 1 001**

**Dra. Diah Aryulina, M.A.,Ph.D.
NIP 19620718 198702 2 001**



**PENGARUH METODE EKSTRAKSI DAN KONSENTRASI TERDAHAP
AKTIVITAS EKSTRAK JAHE MERAH (*Zingiber officinale var.rubrum*)
SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh :

DEA ALVICHA PUTRI

AIF010005

**Telah Dipertahankan di Depan Tim Pengaji Program Studi Pendidikan Kimia
Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan**

Ujian dilaksanakan pada :

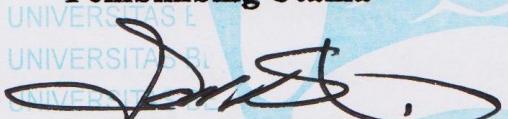
Hari/Tanggal : Kamis, 6 Maret 2014

Pukul : 16.00

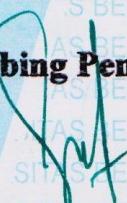
Tempat : Prodi Pendidikan Kimia UNIB

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Dosen Pembimbing

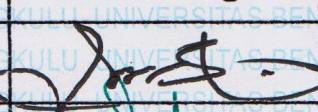
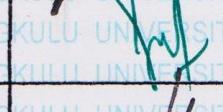
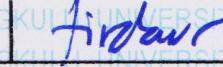
Pembimbing Utama


Dr. Sumpono, M.Si
NIP. 19600825 198703 1 005

Pembimbing Pendamping


Sura Menda Ginting, M.Sc
NIP.19810131 200501 2 003

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Tim Pengaji :

Pengaji	Nama Dosen	Tanda Tangan	Tanggal
Pengaji I	<u>Dr. Sumpono, M.Si</u> <u>NIP. 19600825 198703 1 005</u>		<u>18/3/2014</u>
Pengaji II	<u>Sura Menda Ginting, M.Sc</u> <u>NIP.19810131 200501 2 003</u>		<u>17/3/2014</u>
Pengaji III	<u>Drs. Hermansyah Amir</u> <u>NIP.19620920 199803 1 001</u>		<u>17/3/2014</u>
Pengaji IV	<u>Dr. M. Lutfi Firdaus, M.T</u> <u>NIP.19731022 200003 1 001</u>		<u>17/3/2014</u>

Motto dan Persembahan

~Do something that you love and love something you do~

~Ketika hidupmu berubah menjadi lebih sulit, ubahlah dirimu menjadi lebih kuat~

Ketika kerja kerasmu tak dihargai, saat itu kau sedang belajar ketulusan

Ketika usahamu dinilai tak penting, saat itu kau sedang belajar keikhlasan

Ketika hatimu terluka dalam, saat itu kau sedang belajar memaafkan

Dan ketika kau merasa sendiri, saat itu kau sedang belajar ketangguhan

(Kembang Anggrek)

Dan selalu bersyukur....

Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillah, ku persembahkan tulisan kecilku ini kepada....

- ∅ Kedua orang tuaku yang tercinta, Papa (Drs. Abdul Hamid Hon) dan Mama (Lenda Zurmiyany, S.Pd,AUD) yang senantiasa mendoakanku dan mencerahkan kasih sayangnya tiada henti. Dorongan, semangat, pengorbanan dan kesabaran yang selalu diberikan hingga mampu menguatkanku dan membuatku tak menyerah pada keadaan.
- ∅ Adik-adikku, Satria Ega Putra dan Intan Permata Sari yang selalu memberikan semangat dan membuatku berusaha menjadi yang terbaik agar bisa menjadi panutan bagi mereka.
- ∅ Seluruh keluarga besarku yang senantiasa mendoakan aku hingga saat ini.
- ∅ Pak Sumpono dan Bu Sura Menda Ginting yang dengan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan dan masukan hingga selesaiya skripsi ini. Serta Ibu Elvinawati yang dengan semangat memberikan bimbingan ditengah-tengah masalah kesehatan yang sedang dihadapinya, serta seluruh Dosen Pendidikan Kimia yang menjadi inspirasi terbesarku. Terima kasih sedalam-dalamnya kepada Bapak dan Ibu, semoga selalu beri kesehatan. Amin
- ∅ Pak Zul Effendy yang dengan sabar telah memberikan bimbingan, kritik, saran dan memberikan ilmu yang tak ternilai harganya.
- ∅ Sahabat-sahabatku tersayang Agnes (semoga cepat dapat pasangan), Winda (ayo dipilih.. kita ke Bandung atau pulang kampung?), Vetty (gag bakal lupa saat-saat terakhir kita berjuang bersama dengan berurai air mata), Feki (thanks buat semangatnya dan udah jadi editor buat skripsi ini^^), Theo (langgeng sama Chuchud dan thanks udah jadi pendengar yang baik), Ronald (thanks buat omelannya~the Lucky Man), Fanny (spiritnya untuk menjadi lebih baik jangan pernah padam), Allan dan Ferdi (tetap semangat sahabat...), Hani

(tetap ceria ^^), Putri dan Icin (sedikit lagi kawan..semangat!!), Medi (siap-siap bersikap mandiri ya dek dan terus semangat belajarnya),

- ∅ Seluruh anggota Kechepul (Chemistry '10), Hepy, Siska, Tri, Mak maya, Mbak Ois, Mbk Windayani, Dwi, Anto, Sela, Aang, Bang Feri, Daniele, Kak sep, Ulva, Chintya, Mellyta, Yeyen, Ani, Siti, Wulan, dan Hasyuni, terima kasih atas kebersamaan yang telah kita lalui selama empat tahun ini. Semua akan menjadi kenangan yang berharga.
- ∅ Semua orang yang telah membantu yang tidak bisa disebutkan satu per satu.
- ∅ Kamu, yang nantinya akan selalu sabar menghadapi sikapku, tak segan untuk mengkritik jika aku salah dan selalu memberikan dukungan moril.
- ∅ Agama dan Almamaterku

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dea Alvicha Putri

NPM : A1F010005

Program Studi : Pendidikan Kimia

Fakultas : Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya ilmiah yang disusun berdasarkan prosedur penelitian/pengembangan yang penulis lakukan sendiri dan bukan merupakan duplikasi skripsi/karya ilmiah orang lain. Pendapat atau temuan orang lain yang terdapat dalam skripsi ini dikutip atau dirujuk berdasarkan kode ilmiah.

Demikian pernyataan keaslian skripsi ini penulis buat agar dapat dipergunakan sebagai mana mestinya.

Bengkulu, Februari 2014

Yang Menyatakan



Dea Alvicha Putri
A1F010005

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI DAN KONSENTRASI TERHADAP AKTIVITAS
JAHE MERAH (*Zingiber officinale var.rubrum*)
SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli***

Dea Alvicha Putri*, Sura Menda Ginting, Sumpono

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi dan konsentrasi terhadap aktivitas jahe merah (*Zingiber officinale va.r rubrum*) sebagai antibakteri *Escherichia coli*. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi, digesti dan sokletasi. Dari ketiga metode tersebut diperoleh rendemen ekstrak berturu-turu sebesar 5,68%; 18,29%; dan 10,07%. Bakteri yang digunakan adalah biakan murni dari bakteri *Escherichia coli*. Sebelum diinokulasi ke media padat *Nutrient Agar* (NA), dilakukan penghitungan OD suspensi bakteri *E.coli*, dan diperoleh nilai 0,8. Suspensi tersebut diencerkan sebanyak 10^{-7} kali pengenceran. Konsentrasi larutan ekstrak jahe merah yang diuji sebagai antibakteri adalah 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan 0% sebagai kontrol. Dari keenam perlakuan,, diperoleh konsentrasi minimum ekstrak jahe dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* antara 5-10% dengan diameter zona bening sebesar $7,90 \pm 0,49$ mm. Hasil analisis menggunakan One Way ANOVA memperlihatkan F hitung ($41,87$) > F table ($3,33$), maka H_0 ditolak, berarti terdapat perbedaan yang signifikan pengaruh konsentrasi terhadap dimeter zona bening yang dihasilkan.

Kata kunci : jahe merah, antibakteri, *e.coli*

*Korespondensi penulis, e-mail: deaalvicha@gmail.com

**THE EFFECT OF EXTRACTION METHOD AND CONCENTRATION OF RED
GINGER (*Zingiber officinale var.rubrum*) AS ANTIBACTERIAL AGENT FOR
*Escherichia coli***

Dea Alvicha Putri*, Sura Menda Ginting, Sumpono

ABSTRACT

The goal of this study is to determine the effect of the extraction method and concentration on the activity of red ginger (*Zingiber officinale var rubrum*) as an antibacterial agent for *Escherichia coli*. The extraction method used in this study were maceration, digestion and soxhletation. Of these three methods, the yield obtained were 5,68 %; 18,29 % and 10,07 % respectively. The bacteria used were pure cultures of *Escherichia coli*. Before inoculated onto solid media *Nutrient Agar* (NA), The OD suspension of *E. coli* was calculated and the number obtained was 0,8. The suspension was diluted as much as 10^{-7} times dilution. Solution concentration of red ginger extract as an antibacterial tested were 5% , 10% , 15% , 20%, 25% and 0% as a control. Of the six treatments, the minimum concentration of ginger extract can inhibit the growth of *Escherichia coli* was between 5 -10% with a diameter of $7.90 \pm 0,49$ mm of clear zone. The results of the analysis using One Way ANOVA showed that F count(41.87) > F table (3.33), meaning H_0 was rejected. It means that there was significant difference in the effect of concentration on the diameter of the clear zone of the bacteri *E.coli*.

Keywords: red ginger, antibacterial, *e.coli*

*Corresponding author, e-mail: deaalvicha@gmail.com

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Segala puji dan syukur bagi Allah SWT karena berkat rahmat, nikmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian yang berjudul **“Pengaruh Konsentrasi dan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*”**. Serta shalawat beiring salam senantiasa tercurah bagi Rasulullah SAW.

Skripsi ini ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Pendidikan pada Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA), Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) – Universitas Bengkulu. Penulis menyadari hingga selesaiannya skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung, secara maril maupun materil. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

1. Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu.
2. Dra. Diah Aryulina, M.A. Ph.D selaku Ketua Jurusan P.MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu.
3. Ibu Dewi Handayani, M.Pd selaku Ketua Program Studi Kimia.
4. Bapak Dr. Sumpono, M.Si selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan arahan, masukan dan semangat dari awal hingga selesaiannya skripsi ini.
5. Ibu Sura Menda Ginting, M.Sc selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan dan semangat hingga selesaiannya skripsi ini.
6. Bapak Dr. M.Lutfi Firdaus, S.Si, M.T selaku Pembimbing Akademik.
7. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu, yang telah senantiasa membekali ilmu yang sangat berharga.
8. Ketua dan staf Laboran Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu yang telah banyak membantu peneliti selama masa penelitian.

9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu demi terselesaikannya skripsi ini.

Penulis meminta maaf bila masih ada kekurangan dan kelemahan yang terdapat dalam skripsi ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan sebagai masukan bagi penulisan karya-karya diwaktu selanjutnya. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Bengkulu, Februari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iv
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
ABSTRAK	vii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv

BAB I. PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	4
1.3.Ruang Lingkup	4
1.4.Keaslian Penelitian.....	4
1.5.Tujuan	5
1.6.Manfaat	5

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1.Studi Pustaka.....	6
2.2. Jahe Merah (<i>Zingiber officinale var rubrum</i>)	7
2.1.1. Kandungan Kimia Jahe Merah.....	10
2.3.Ekstraksi Oleoresin Jahe Merah	13
2.4. Uji Antibakteri	17
2.4.1. Uraian Umum	17
2.4.2. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	19
2.4.3. Antibakteri.....	20
2.4.4 Uji Aktivitas Antibakteri	21
2.5 Kerangka Pikir	23

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1.Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	24
3.2.1. Alat Penelitian	24
3.2.2. Bahan Penelitian	24
3.3.Prosedur Penelitian	25
3.3.1. Pembuatan Simplicia Jahe Merah	25
3.3.2. Ekstraksi Oleoresin Jahe Merah	2
3.3.2.1. Digesti	2
3.3.2.2. Sokletasi.....	26
3.3.2.3. Maserasi	26
3.3.3. Uji Fitokimia	26
3.3.3.1. Uji Flavonoid	26
3.3.3.2. Uji Alkaloid	27

3.3.3.3. Uji Saponin	27
3.3.3.4 Uji Triterpenoid dan Steroid	27
3.3.3.5. Uji Fenolik	27
3.3.4. Pembuatan Larutan Ekstrak JaheMerah	27
3.3.5. Pembuatan dan Penempatan Media	28
3.3.5.1. Pembuatan Media	28
3.3.5.2. Sterilisasi Alat	28
3.3.5.3. Penempatan Media	29
3.3.5.4. Pengenceran Isolat Bakteri	29
3.3.5.5. Inokulasi Bakteri dan Uji Aktivitas Antibakterinya	30
3.4 Analisis Data	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1.Preparasi Sampel Jahe Merah	33
4.2.Ekstraksi Oleoresin Jahe Merah	33
4.2.1 Metode Maserasi dengan Pengadukan	34
4.2.2 Metode Digesti	35
4.2.3 Metode Sokletasi	35
4.3.Uji Fitokimia	38
4.4.Uji Aktivitas Antibakteri <i>E.coli</i>	40
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1.Kesimpulan	44
5.2.Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 1. Jahe (<i>Zingiber officinale R</i>)	7
2. Gambar 2. Jahe Gajah(<i>Zingiber officinale var officinarum</i>)	8
3. Gambar 3 Jahe Merah (<i>Zingiber officinale var rubrum</i>)	9
4. Gambar 4 Konversi [6]-Gingerol dan Shogaol dan Zingiberin	12
5. Gambar 5. Senyawa Identitas Jahe Merah.....	12
6. Gambar 6. <i>E.coli</i> pada media LA, inkubasi 37°C selama 24 jam	19
7. Gambar 7. Simplisia Jahe Merah yang Telah Dihaluskan.....	33
8. Gambar 8. Ekstraksi Jahe Merah dengan Metode Maserasi	34
9. Gambar 9. Ekstraksi Jahe Merah dengan Metode Digesti	35
10. Gambar 10. Ekstraksi Jahe Merah dengan Metode Sokletasi	36
11. Gambar 11. Grafik Hubungan Metode Ekstraksi Dengan Rendemen Ekstrak Jahe Merah.....	37
12. Gambar 12. Grafik Hubungan Konsentrasi Ekstrak Jahe Merah Dengan Diameter Zona Bening.....	42

DAFTAR TABEL

- | | |
|--|----|
| 1. Table 1. Efek Farmakologis dari Zat Aktif pada Tanaman Jahe | 13 |
| 2. Table 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Jahe Merah | 38 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki ribuan jenis tumbuhan yang tersebar di berbagai daerah, dimana keanekaragaman hayati yang ada tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan memakai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Salah satu tanaman yang sering digunakan masyarakat adalah jahe (*Zingiber officinale Rosc*).

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan salah satu rempah-rempah dalam suku temu-temuan (Zingiberaceae), sefamili dengan temu-temuan lainnya seperti temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), temu hitam (*Curcuma aeruginosa*), kunyit (*Curcuma domestica*), kencur (*Kaempferia galanga*), lengkuas (*Languas galanga*), dan lain-lain yang telah digunakan secara luas di dunia baik sebagai bumbu dapur maupun sebagai obat. Ada tiga jenis varian jahe di Indonesia, yaitu jahe gajah (*Zingiber officinale var officinarum*), jahe emprit (*Zingiber officinale var amarum*), dan jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*).

Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak tanaman jahe adalah golongan flavonoid, fenol, terpenoid, dan minyak atsiri. Menurut Herlina dkk (2002), kandungan minyak atsiri jahe merah berkisar antara 2,58-3,72% dari bobot kering, sementara kandungan oleoresinnya dapat mencapai 3% dari bobot kering. Hal ini yang menyebabkan jahe merah lebih sering digunakan dalam dunia pengobatan. Sementara jahe gajah dan jahe emprit lebih sering digunakan sebagai makanan/minuman seperti manisan, asinan, wedang jahe dan sekoteng.

Penyusun utama dari oleoresin jahe adalah senyawa turunan fenol seperti gingerol dan shogaol yang dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri. Hasil penelitian Purwani dan Muwakidah (2008) menunjukkan bahwa berbagai bahan alami yaitu laos, jahe dan kunyit yang telah diparut dan dilumatkan

pada ikan dapat mengawetkan daging dan ikan selama 24 jam pada suhu kamar.

Oleoresin merupakan hasil pengolahan lanjutan dari bubuk/serbuk berupa campuran resin dan minyak atsiri yang diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut organik. Jahe mengandung resin yang cukup tinggi sehingga bisa dibuat sebagai oleoresin. Keuntungan dari oleoresin adalah lebih higienis dan aromanya lebih tajam. Oleoresin memiliki sifat organoleptik dari rempah-rempah alamiah, yaitu mengandung pigmen, rasa pedas, dan sifat antioksidan.

Sementara ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang terdapat dalam suatu bahan yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut (Sembiring, 2005). Beberapa metode yang dapat digunakan untuk ekstraksi oleoresin adalah maserasi, digesti, perkolası, sokletasi, dan maserasi dengan pengadukan.

Setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangan terkait dengan karakteristik sampel dan faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi itu sendiri. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi yaitu, jenis pelarut, jumlah pelarut, pengadukan, waktu ekstraksi dan suhu. Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada temperatur tinggi, tetapi pada ekstraksi oleoresin ini akan menyebabkan beberapa komponen yang terdapat dalam rempah akan mengalami perubahan (Moestafa, 1981).

Pada penelitian Lestari (2006), untuk mengekstraksi oleoresin jahe digunakan metode perkolası dengan suhu 40°C dengan nisbah rimpang jahe dan pelarut 1 : 6 selama 2 jam akan menghasilkan rendemen 20,1%, kadar minyak atsiri 38,76 %. Sementara menurut hasil penelitian Rahminiwati (2010) mengenai aktivitas antibakteri ekstrak jahe terhadap *Mycoplasma gallisepticum* dan *Escherichia coli* secara in vitro yang hanya menggunakan air perasan jahe segar sebagai ekstrak. Aktivitas antibakteri jahe terhadap *M. gallisepticum* dengan konsentrasi terkecil adalah 8% pada fraksi heksan dan 10% pada fraksi air. Namun, air perasan jahe tersebut tidak menampakkan adanya aktivitas antibakteri pada *E.coli*.

Ketidakefektifan air perasan jahe sebagai antibakteri *E.coli* dalam penelitian Rahminiwati, dikarenakan pemilihan metode ekstraksi yang kurang tepat. Metode ekstraksi akan sangat mempengaruhi mutu oleoresin jahe yang dihasilkan. Metode yang tidak tepat akan menyebabkan penarikan senyawa metabolit sekunder dari jahe tidak maksimal, sehingga akan mempengaruhi kemampuannya sebagai senyawa antibakteri. Djubaedah (Lestari 2006) menyatakan bahwa perlakuan terbaik dalam ekstraksi dengan cara perlakuan pada suhu 40°C, selama 2 jam dengan menggunakan pelarut etanol.

Diare merupakan salah satu penyakit yang diakibatkan oleh infeksi bakteri. Beberapa bakteri penyebab diare adalah *Escherichia coli*, *Vibrio cholera O1*, *Shigella spp*, *Salmonella spp*, *V. parahaemoliticus*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter jejuni*, *V. cholerae non O1* dan *Salmonella paratyphi A* (Winarsih, 2010)

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, motil aktif dan tidak membentuk spora. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang secara normal terdapat di dalam usus dan berperan dalam proses pembusukan sisa-sisa makanan. Namun bila keberadaannya telah di atas jumlah normal dan telah berpindah dari habitat normalnya, yaitu usus besar maka ia dapat membahayakan kesehatan (Meliawati, 2009).

Dengan adanya kandungan senyawa antibakteri, jahe merah (*Zingiber officinale var Rubrum*) dapat digunakan sebagai bahan baku obat untuk mengatasi penyakit yang diakibatkan oleh *E.coli* ini. Suatu senyawa antibakteri dapat bersifat bakteristatis (menghambat pertumbuhan bakteri) dan bakterisidal (membunuh bakteri). Berkaitan dengan fungsi *E.coli* untuk melindungi usus dari bakteri patogen lainnya, jika senyawa antibakteri yang digunakan adalah bakterisidal, maka senyawa tersebut dapat membunuh seluruh *E.coli*. Untuk itu perlu diketahui pengaruh konsentrasi terhadap aktivitas ekstrak jahe merah sebagai antibakteri *E.coli* dan berapa konsentrasi hambat minimum (KHM) nya.

Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik untuk meneliti **Pengaruh Metode Ekstraksi dan Konsentrasi Terhadap Aktivitas Ekstrak Jahe**

Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) yang dihasilkan?
2. Berapa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) sebagai antibakteri *Escherichia coli*?

1.3 Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian yang dilakukan adalah :

1. Jahe merah yang digunakan adalah jahe yang dibudidayakan di daerah Susup, Kabupaten Bengkulu Tengah.
2. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli* yang dikembangbiakkan di Laboratorium IHPT (Proteksi Tanaman) Universitas Bengkulu.
3. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi, digesti dan sokletasi.
4. Variasi konsentrasi yang dilakukan adalah 5%, 10%, 15%, 20%, 25%

1.4 Keaslian Penelitian

Beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk menguji tanaman jahe sebagai antioksidan, antibakteri dan antimikroba.

Winarsih (2010) meneliti Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale Varian Rubrum*) Terhadap *Shigella Dysenteriae* Isolat 2312-F Secara *In-Vitro* .

Purwani dan Qoyimah (2012) meneliti tentang daya hambat ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus saprophyticus* perusak ikan dalam sistem emulsi Tween 80. Hasilnya ternyata ekstrak jahe mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus saprophyticus* pada konsentrasi 25% sebesar 19,11 mm dengan kategori hambatan sedang.

1.5 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui bagaimana pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) yang dihasilkan.
2. Untuk mengetahui berapa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) sebagai antibakteri *E.coli*.

1.6 Kegunaan Penelitian

1.6.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan tentang tanaman obat tradisional yang berpotensi sebagai antibakteri, menerapkan berbagai teori yang didapatkan di bangku kuliah dan menambah keterampilan peneliti di laboratorium sesuai dengan bidang ilmu.

1.6.2 Bagi Masyarakat

Dapat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa tanaman jahe merah memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Pemanfaatan tanaman jahe merah oleh masyarakat masih kurang maksimal, diharapkan penelitian ini dapat meningkatkan nilai guna tanaman jahe tersebut.

1.6.3 Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

Memberikan informasi mengenai pengaruh metode ekstraksi dan konsentrasi ekstrak jahe merah terhadap aktivitas antibakterinya untuk menghambat pertumbuhan *E.coli* yang nantinya dapat digunakan pada penelitian lebih lanjut dalam bidang pengobatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Studi Pustaka

Telah banyak dilakukan penelitian tentang tanaman jahe berkaitan dengan potensinya sebagai senyawa antibakteri. Baik itu dalam bidang pengawetan bahan makanan mentah maupun dalam bidang kesehatan.

Seperti yang dilaporkan oleh Qoyyimah dan Purwani (2012) dalam jurnal Daya Hambat Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus saprophyticus* Perusak Ikan dalam Sistem Emulsi Tween 80. Hasilnya ternyata ekstrak jahe mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus saprophyticus* pada konsentrasi 25% sebesar 19,11 mm dengan kategori hambatan sedang , konsentrasi 35% sebesar 20,22 mm dengan kategori kuat dan 45% sebesar 21,44 dengan kategori kuat. Sehingga ada pengaruh yang nyata pada penggunaan konsentrasi ekstraksi jahe 0%, 25%, 35%, 45% terhadap penghambatan *Staphylococcus saprophyticus*.

Aplikasi ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) sebagai antibakteri juga pernah diteliti oleh Rahminiwati (2010) mengenai bioprospeksi ekstrak jahe gajah sebagai Anti-CRD: kajian aktivitas antibakteri terhadap *Mycoplasma gallisepticum* dan *E.coli* in vitro. Hasil penelitiannya perasan jahe mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *M.gallisepticum* dengan konsentrasi terkecil 8% pada fraksi heksan dan 10% pada fraksi air. Sehingga berpotensi sebagai anti-*M.gallisepticum* penyebab penyakit pernapasan akut. Sementara pada bakteri *E.coli*, tidak menampakkan adanya aktivitas antibakteri. Hal ini dikarenakan ekstrak jahe yang digunakan adalah ekstrak segar jahe. Sementara menurut Nursal dan Yaotama dalam jurnal Rahminiwati ini efek antibakteri terhadap *E.coli* mulai terlihat pada konsentrasi 6%. Namun perlakuan yang diberikan dalam ekstraksi jahe berbeda, yaitu jahe dikeringkan dan diserbukkan terlebih dahulu. Menurut Jolad (Rahminiwati,2010) proses pengeringan dan pemanasan akan

mengubah kandungan kimia pada jahe seperti mengubah zingiberol menjadi shogaol.

Lestari (2006) meneliti pengaruh nisbah rimpang dengan pelarut dan lama ekstraksi terhadap mutu oleoresin jahe merah (*Zingiber Officinale Var. Rubrum*). Hasilnya kombinasi perlakuan terbaik adalah perlakuan nisbah 1:6 dengan lama ekstraksi 2 jam. Pada perlakuan tersebut menghasilkan rendemen 20,1%, kadar minyak atsiri 38,76% dengan metode perkolasai.

2.2 Tanaman Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*)



Gambar 1. Jahe (*Zingiber officinale R*)

Tanaman Jahe (*Zingiber Officinale Rosc*) dalam dunia tanaman memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub-divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Monocotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Zingiberaceae</i>
Genus	: <i>Zingiber</i>
Species	: <i>Zingiber officinale Rosc.</i>

Famili Zingiberaceae terdapat disepanjang daerah tropis dan sub tropis terdiri atas 47 genus dan 1.400 species. Genus Zingiber meliputi 80

species yang salah satu diantaranya adalah jahe yang merupakan species paling penting dan paling banyak manfaatnya (Hapsoh, 2008). Ada tiga jenis jahe, yaitu :

1. Jahe putih besar / jahe gajah

Varietas jahe ini banyak ditanam di masyarakat dan dikenal dengan nama *Zingiber officinale var. officinarum*. Batang jahe gajah berbentuk bulat, berwarna hijau muda, diselubungi pelepas daun, sehingga agak keras. Tinggi tanaman 55,88-88,38 cm. Daun tersusun secara berselang-seling dan teratur, permukaan daun bagian atas berwarna hijau muda jika dibandingkan dengan bagian bawah

Ukuran rimpangnya lebih besar dan gemuk jika dibandingkan jenis jahe lainnya. Jika diiris rimpang berwarna putih kekuningan. Berat rimpang berkisar 0.18-1.04 kg dengan panjang 15.83-32.75 cm, ukuran tinggi 6.02-12.24 cm. Ruas rimpangnya lebih mengembung dari kedua varietas lainnya. Jenis jahe ini bisa dikonsumsi baik saat berumur muda maupun berumur tua, baik sebagai jahe segar maupun jahe olahan (Hapsoh, 2008).



Gambar 2. Jahe Gajah (*Zingiber officinale var.officinale*)

2. Jahe putih/kuning kecil/jahe emprit

Jahe ini dikenal dengan nama Latin *Zingiber officinale var. amarum*, memiliki rimpang dengan bobot berkisar antara 0,5-0,7 kg/rumpun. Struktur rimpang kecil-kecil dan berlapis.

Daging rimpang berwarna putih kekuningan. Tinggi rimpangnya dapat mencapai 11 cm dengan panjang antara 6-30 cm dan diameter antara 3,27-4,05 cm. Ruasnya kecil, agak rata sampai agak sedikit

menggembung. Jahe ini selalu dipanen setelah berumur tua. Akar yang keluar dari rimpang berbentuk bulat. Panjang dapat mencapai 26 cm dan diameternya berkisar antara 3,91-5,90 cm. Akar yang banyak dikumpulkan dari satu rumpun dapat mencapai 70 g lebih banyak dari akar jahe besar.

Tinggi tanaman jika diukur dari permukaan tanah sekitar 40-60 cm sedikit lebih pendek dari jahe besar. Bentuk batang bulat dan warna batang hijau muda hampir sama dengan jahe besar, hanya penampilannya lebih ramping dan jumlah batangnya lebih banyak (Hapsoh, 2008).

3. Jahe merah atau jahe sunti

Jahe merah/jahe sunti (*Zingiber officinale var. rubrum*) memiliki rimpang dengan bobot antara 0,5-0,7 kg/rumpun. Struktur rimpang jahe merah, kecil berlapis-lapis dan daging rimpangnya berwarna merah jingga sampai merah, ukuran lebih kecil dari jahe kecil.

Diameter rimpang dapat mencapai 4 cm dan tingginya antara 5,26-10,40 cm. Panjang rimpang dapat mencapai 12,50 cm. Jahe merah selalu dipanen setelah tua, dan juga memiliki kandungan minyak atsiri yang lebih tinggi dibandingkan jahe kecil, sehingga cocok untuk ramuan obat-obatan.

Akar yang keluar dari rimpang berbentuk bulat, berdiameter antara 2,9-5,71 cm dan panjangnya dapat mencapai 40 cm. Akar yang dikumpulkan dalam satu rumpun jahe merah dapat mencapai 300 g, jauh lebih banyak dari jahe gajah dan jahe emprit (Hapsoh, 2008).



Gambar 3. Jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*)

2.2.1 Kandungan Kimia Jahe (*Zingiber Officinale Rosc*)

Senyawa kimia rimpang jahe menentukan aroma dan tingkat kepedasan jahe. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi komposisi kimia rimpang jahe adalah antara lain: jenis jahe, tanah sewaktu jahe ditanam, umur rimpang saat dipanen, pengolahan rimpang jahe (Rismunandar, 1988).

Secara umum komponen senyawa kimia yang terkandung dalam jahe terdiri dari minyak menguap (volatile oil), minyak tidak menguap (non volatile oil) dan pati. Minyak atsiri termasuk jenis minyak menguap dan merupakan suatu komponen yang memberi bau khas. Kandungan minyak tidak menguap disebut oleoresin, yakni suatu komponen yang memberikan rasa pahit dan pedas.

Rimpang jahe merah selain mengandung senyawa-senyawa kimia tersebut, juga mengandung gingerol, 1,8-cineol, 10-dehydrogingerdion, 6-gingerdion, arginin, a-linolenic acid, aspartic, B-sitosterol, caprylic acid, capaicin, chlhorogenis acid, fanesal, farnesen, farnesol, dan unsur pati seperti tepung kanji, serta serat-serat resin dalam jumlah sedikit.

Kandungan oleoresin jahe berbeda-beda. Oleoresin jahe bisa mencapai 3% tergantung jenis jahe bersangkutan. Jahe merah rasa pedasnya tinggi disebabkan kandungan oleoresinnya lebih tinggi dibandingkan dengan jenis jahe lainnya (Hariana, 2002).

Menurut Denyer (Hernani 2011), secara umum ketiga jenis jahe tersebut mengandung pati, minyak atsiri, serat, sejumlah kecil protein, vitamin, mineral, dan enzim proteolitik yang disebut zingibain. Sementara aktivitas rimpang jahe sebagai tanaman obat berkaitan dengan metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya seperti oleoresin (3-5%), minyak atsiri (1-3%), lipid, pati, vitamin dan zat mineral.

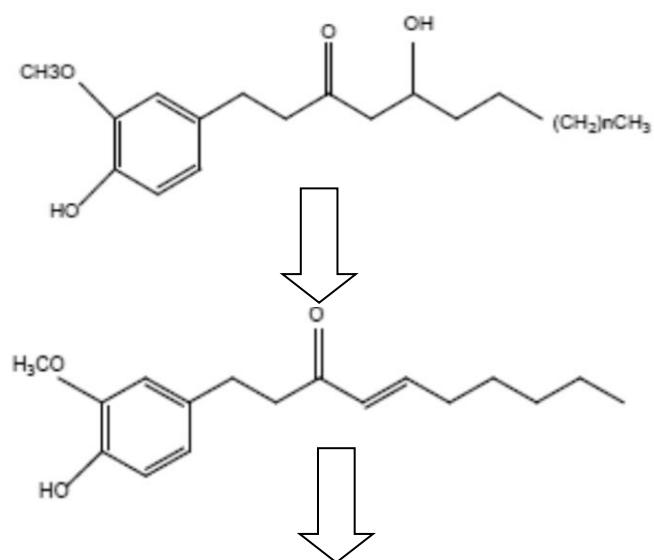
Menurut penelitian Hernani dan Hayani (2001), jahe merah mempunyai kandungan pati (52,9%), minyak atsiri (3,9%) dan

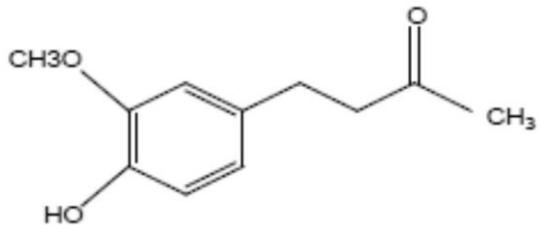
ekstrak yang larut dalam alkohol (9,93%) lebih tinggi dibandingkan jahe emprit (41,48, 3,5 dan 7,29%) dan jahe gajah (44,25, 2,5 dan 5,81%).

Rasa pedas dari jahe segar berasal dari kelompok senyawa gingerol, yaitu senyawa turunan fenol. Limpahan/komponen tertinggi dari gingerol adalah [6]-gingerol. Rasa pedas dari jahe kering berasal dari senyawa shogaol, yang merupakan hasil dehidrasi dari gingerol. (Hernani dan Hayani, 2001).

Komponen utama dari jahe segar adalah senyawa homolog fenolik yang dikenal sebagai gingerol. Gingerol sangat tidak stabil dengan adanya panas dan pada suhu tinggi akan berubah menjadi shogaol. Shogaol lebih pedas dibandingkan gingerol, merupakan komponen utama jahe kering. Gingerol sebagai komponen utama jahe dapat terkonversi menjadi shogaol atau zingeron (Gambar 4) selama proses pemanasan (Hernani dan Winarti, 2011).

Kecepatan degradasi dari [6]-gingerol menjadi shogaol tergantung pada pH, stabilitas terbaik pada pH 4, sedangkan pada suhu 100°C dan pH 1, degradasi perubahan relatif cukup cepat (Bhattarai dkk, 2011).

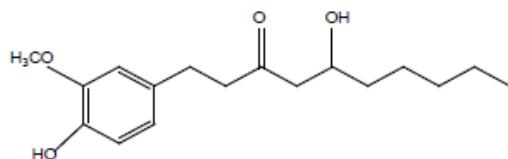




Gambar 4. Konversi [6]-Gingerol (atas) menjadi Shogaol (tengah) dan zingerin (bawah)

Konsentrasi gingerol dari jahe kering akan berkurang dibandingkan dalam jahe segar, sedangkan shogaol akan meningkat. Senyawa identitas pada jahe merah adalah [6]-gingerol (Gambar 5). Kandungan gingerol jahe merah lebih tinggi dibanding jahe lainnya.

Karakteristik bau dan aroma jahe berasal dari campuran senyawa zingeron, shogaol serta minyak atsiri dengan kisaran 1-3% dalam jahe segar. Sedangkan kepedasan dari jahe akibat adanya turunan senyawa non-volatile fenilpropanoid seperti gingerol dan shogaol. Zingeron mempunyai kepedasan lebih rendah dan memberikan rasa manis (Hernani dan Winarti. 2011).



Gambar 5. Senyawa identitas jahe merah

Sebagai salah satu tanaman obat, jahe memiliki efek farmakologis seperti yang terlihat pada table di bawah ini :

Table 1. Efek Farmakologis dari Zat Aktif pada Tanaman Jahe

No	Nama Zat Aktif	Efek Farmakologis
1	Limoen	Menghambat jamur <i>Candida albicans</i> , obat flu
2	1,8-sineol	Mengatasi ejakulasi prematur, penguat lapar, perangsang aktivitas syaraf pusat
3	10-dehidrogingerdion 10-gingerdion 6-gingerdion 6-gingerol	Merangsang keluarnya ASI Menghambat kerja enzim siklookksigenase
4	α -asam linolenik	Anti-pendarahan diluar haid Merangsang kekebalan tubuh, merangsang produksi getah bening
5	Arginin	Mencegah kemandulan
6	Asam aspartate	Perangsang syaraf, penyegar
7	Betha-sitoserol	Perangsang hormon androgen, menghambat hormon estrogen
8	Asam saprilik	Antijamur <i>Candida albicans</i>
9	Capsaicin (Seluruh bagian tanaman)	Meningkatkan aktivitas kelenjar endokrin,
10	Asam klorogenik (Seluruh bagian tanaman)	Mencegah proses penuaan
11	Farnesol	Bahan pewangi makanan, parfum dan merangsang regenerasi sel.

(Hariana, 2002)

2.3 Ekstraksi Oleoresin Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*)

Oleoresin adalah bagian dari sampel yang mengandung komponen-komponen yang menguap (minyak atsiri) maupun yang tidak menguap (resin dan pigmen). Oleoresin mempunyai aroma yang khas dan tajam.

Oleoresin bisa didapatkan dengan mengekstrak sampel menggunakan pelarut organik, seperti alkohol, heksan, etil asetat, etil alkohol, isopropil alkohol, aseton, gliserol, dan gliseril.

Ekstraksi untuk mendapatkan oleoresin biasanya dilakukan dengan cara perkolası pada suhu kamar atau panas. Pelarutnya diuapkan dengan bantuan pompa vakum pada suhu 50°C.

Selain itu ada beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan, yaitu : maserasi, digesti, sokletasi dan maserasi dengan pengadukan (Said, 2003)

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang terdapat dalam suatu bahan yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut.

Ada beberapa jenis metode ekstraksi, baik itu yang merupakan cara dingin maupun cara panas, yaitu: maserasi, digesti, perkolası, sokletasi, penyilingan dan refluks.

a. Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan kosentrasi larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan diluar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, metanol, etanol-air atau pelarut lainnya. Remaserasi berarti dilakukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Remaserasi berarti dilakukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara penggerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana yang mudah diusahakan.

b. Perkolasi

Ekstraksi secara perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkulator, ditambahkan cairan penyari. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml/menit, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya.

c. Ekstraksi secara penyulingan

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka penyari dilakukan dengan penyulingan.

d. Ekstraksi secara refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali.

e. Sokletasi

Untuk mengekstrak oleoresin jahe merah menggunakan metode ini, etanol 96% dipanaskan sampai mendidih dan menguap. Uap etanol akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh kondensor tegak. Etanol yang telah kembali mengembun akan turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia jahe merah. Selanjutnya bila etanol mencapai sifon, maka seluruh etanol yang telah mengandung oleoresin jahe merah akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses

sirkulasi. Demikian seterusnya sampai oleoresin yang terdapat dalam simplisia jahe merah tersari seluruhnya yang ditandai dengan jernihnya cairan yang melewati tabung sifon.

f. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

Menurut Farrel (Sembiring, 2005), oleoresin dihasilkan dengan cara ekstraksi rempah. Ada dua cara ekstraksi yang menghasilkan oleoresin, yaitu ekstraksi secara langsung dan ekstraksi secara bertahap. Ekstraksi secara bertahap dilakukan dengan cara menyuling minyak atsiri yang terdapat pada bahan, kemudian ampas yang dihasilkan tersebut diekstraksi dengan pelarut organik, selanjutnya minyak tersebut dapat dicampur kembali ke dalam oleoresin, sedangkan ekstraksi secara langsung dilakukan dengan mencampur bahan yang telah halus tersebut ke dalam pelarut.

Metoda ekstraksi yang digunakan akan sangat berpengaruh terhadap jumlah oleoresin yang diperoleh. Ekstraksi oleoresin menggunakan pelarut yang biasa dilakukan ada dua macam, yaitu dengan soxhlet dan cara perkolasi dengan atau tanpa pemanasan. Salah satu ekstraksi oleoresin yang sering digunakan adalah perkolasi. Cara perkolasi pada prinsipnya adalah menambahkan pelarut pada bahan yang akan diekstraksi dengan perbandingan tertentu, kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* atau *mixer* (Lestari, 2006).

Rendemen yang lebih baik pada ekstraksi dengan metode perkolasi mungkin disebabkan oleh adanya faktor pengadukan. Pengadukan yang baik akan meningkatkan kecepatan pelarutan. Selain itu, pengadukan akan meningkatkan intensitas kontak partikel bahan dengan pelarut.

Oleoresin yang diperoleh dengan ekstraksi juga dipengaruhi oleh lama ekstraksi, suhu dan jenis pelarut yang digunakan. Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada temperatur tinggi, tetapi pada ekstraksi oleoresin ini akan

menyebabkan beberapa komponen yang terdapat dalam rempah akan mengalami perubahan (Moestafa, 1981).

Djubaedah (Lestari, 2006) menyatakan bahwa perlakuan terbaik dalam ekstraksi dengan cara perlakuan pada suhu 40°C, selama 2 jam dengan menggunakan pelarut etanol. Perbandingan nisbah rimpang jahe dan pelarut etanol yang maksimal adalah 1 : 6 dengan lama ekstraksi 2 jam akan menghasilkan remdemen oleoresin sebanyak 20,1%.

2.4 Uji antibakteri

2.4.1 Uraian Umum

Bakteri termasuk dalam golongan prokariotik, ukurannya sangat kecil (dalam ukuran mikron) sehingga hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop. Bakteri memiliki inti sel yang terdiri atas DNA dan RNA namun tidak memiliki pembungkus inti. Dinding selnya terdiri atas peptidoglikan, berkembang biak dengan membelah diri (*binary fission*), dapat dibiakkan pada perbenihan buatan serta dapat dihambat dengan antibiotika. Beberapa bakteri ada yang dapat bergerak aktif karena memiliki flagella.

Bakteri mengalami pertumbuhan melalui beberapa fase, yaitu:

1) Fase lag

Pada saat dipindahkan ke media yang baru, bakteri tidak langsung tumbuh dan membelah, meskipun kondisi media sangat mendukung untuk pertumbuhan. Bakteri biasanya akan mengalami masa penyesuaian untuk menyeimbangkan pertumbuhan.

2) Fase log

Selama fase ini, populasi meningkat dua kali pada interval waktu yang teratur. Jumlah koloni bakteri akan terus bertambah seiring lajunya aktivitas metabolisme sel.

3) Fase tetap

Pada fase ini terjadi kompetisi antara bakteri untuk memperoleh nutrisi dari media untuk tetap hidup. Sebagian bakteri mati sedangkan

yang lain tumbuh dan membelah sehingga jumlah sel bakteri yang hidup menjadi tetap.

4) Fase kematian

Pada fase ini, sel bakteri akan mati lebih cepat daripada terbentuknya sel baru. Laju kematian mengalami percepatan yang eksponensial

Berdasarkan morfologinya bakteri dapat dibedakan atas tiga bagian yaitu:

1) Bentuk basil

Basil adalah bakteri yang mempunyai bentuk menyerupai batang atau silinder, membelah dalam satu bidang, berpasangan ataupun berbentuk rantai pendek atau panjang. Bentuk basil dapat dibedakan atas:

- a) Monobasil yaitu basil yang terlepas satu sama lain dengan kedua ujung tumpul.
- b) Diplobasil yaitu basil yang bergandeng dua dan kedua ujungnya tumpul.
- c) Streptobasil yaitu basil yang bergandengan panjang dengan kedua ujung tajam. Contoh: *Escherichia coli*, *Bacillus anthracis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*.

2) Bentuk kokus

Kokus adalah bakteri yang bentuknya seperti bola-bola kecil, ada yang hidup sendiri dan ada yang berpasang-pasangan. Bentuk kokus ini dapat dibedakan atas:

- a) Diplokokus yaitu kokus yang bergandeng dua.
- b) Tetrakokus yaitu kokus yang mengelompok empat.
- c) Stafilokokus yaitu kokus yang mengelompok dan merupakan suatu untaian.
- d) Streptokokus yaitu kokus yang bergandeng-gandengan panjang berupa rantai.

e) Sarsina yaitu kokus yang mengelompok seperti kubus.

Contoh: *Monococcus gonorrhoe*, *Diplococcus pneumoniae*, *Streptococcus lactis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina luten*.

3) Bentuk spiral

Dapat dibedakan atas:

- a) Spiral yaitu bentuk yang menyerupai spiral atau lilitan.
- b) Vibrio yaitu bentuk batang yang melengkung berupa koma.
- c) Spirochaeta yaitu menyerupai bentuk spiral, bedanya dengan spiral dalam kemampuannya melenturkan dan melengkukkan tubuhnya sambil bergerak.

Contoh: *Spirillum*, *Vibrio cholerae*, *Spirochaeta palida* (Brooks dkk, 2005).

2.4.2 Bakteri *Escherichia coli*

Adapun klasifikasi bakteri *Escherichia coli* sebagai berikut (Melliawati, 2009):

Divisi : Bacteriophyta

Kelas : Bacteria

Bangsa: Eubacteriales

Suku : Bacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies: *Escherichia coli*



Gambar 6. Bakteri *E. coli* pada media LA
inkubasi 37°C selama 24 jam

E. coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, motil aktif dan tidak membentuk spora. Pembiakkan *E. coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C (Juliantina dkk, 2008).

Escherichia coli merupakan bakteri yang secara normal terdapat di dalam usus dan berperan dalam proses pembusukan sisa-sisa makanan. Keberadaan bakteri ini merupakan parameter ada tidaknya materi fekal di dalam suatu habitat khususnya air. *Escherichia coli* adalah salah satu jenis bakteri yang ada dalam tinja manusia dan dapat mengakibatkan gangguan pencernaan seperti diare (Dewi, 2010).

Beberapa keuntungan dari bakteri *E. coli* yaitu menghasilkan kolisin, yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri usus yang patogenik. Namun bila keberadaannya telah di atas jumlah normal dan telah berpindah dari habitat normalnya, yaitu usus besar maka ia dapat membahayakan kesehatan. Telah terbukti bahwa pada galur tertentu ia dapat menyebabkan gastroenteritis taraf sedang sampai parah pada manusia dan hewan. *Escherichia coli* juga dapat menyebabkan diare akut, yang dapat dikelompokkan menjadi 3 kategori yaitu enteropatogenik (penyebab gasteroenteritis akut pada bayi yang baru lahir sampai pada yang berumur 2 tahun), enteroinaktif dan enterotoksigenik (penyebab diare pada anak-anak yang lebih besar dan pada orang dewasa). Dilaporkan pula bila *E.coli* di dalam usus memasuki kandung kemih, maka dapat menyebabkan sinistis yaitu suatu peradangan pada selaput lendir organ tersebut (Meliawati, 2009).

2.4.3 Antibakteri

Menurut Borowitzka (Kusmiati, 2006) kelompok senyawa kimia utama yang merupakan antibakteri adalah fenol dan senyawa fenolat, alkohol, halogen, logam berat, detergen, aldehid, dan gas kemosterilisator.

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan

mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas).

Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan membunuh bakteri, masing-masing dikenal sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisidal bila kadar antimikroba ditingkatkan melebihi KHM.

Aktivitas suatu bahan antibakteri dipengaruhi beberapa faktor, yaitu kepadatan populasi bakteri, kepekaan terhadap bahan antibakteri, volume bahan antibakteri, lamanya bahan antibakteri diaplikasikan, konsentrasi, suhu dan kandungan dari bahan antibakteri tersebut (Brooks dkk, 2005).

2.4.4 Penentuan Aktivitas Antibakteri

Penentuan kepekaan bakteria patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi. Penting sekali menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba.

a. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja (Dewi, 2010).

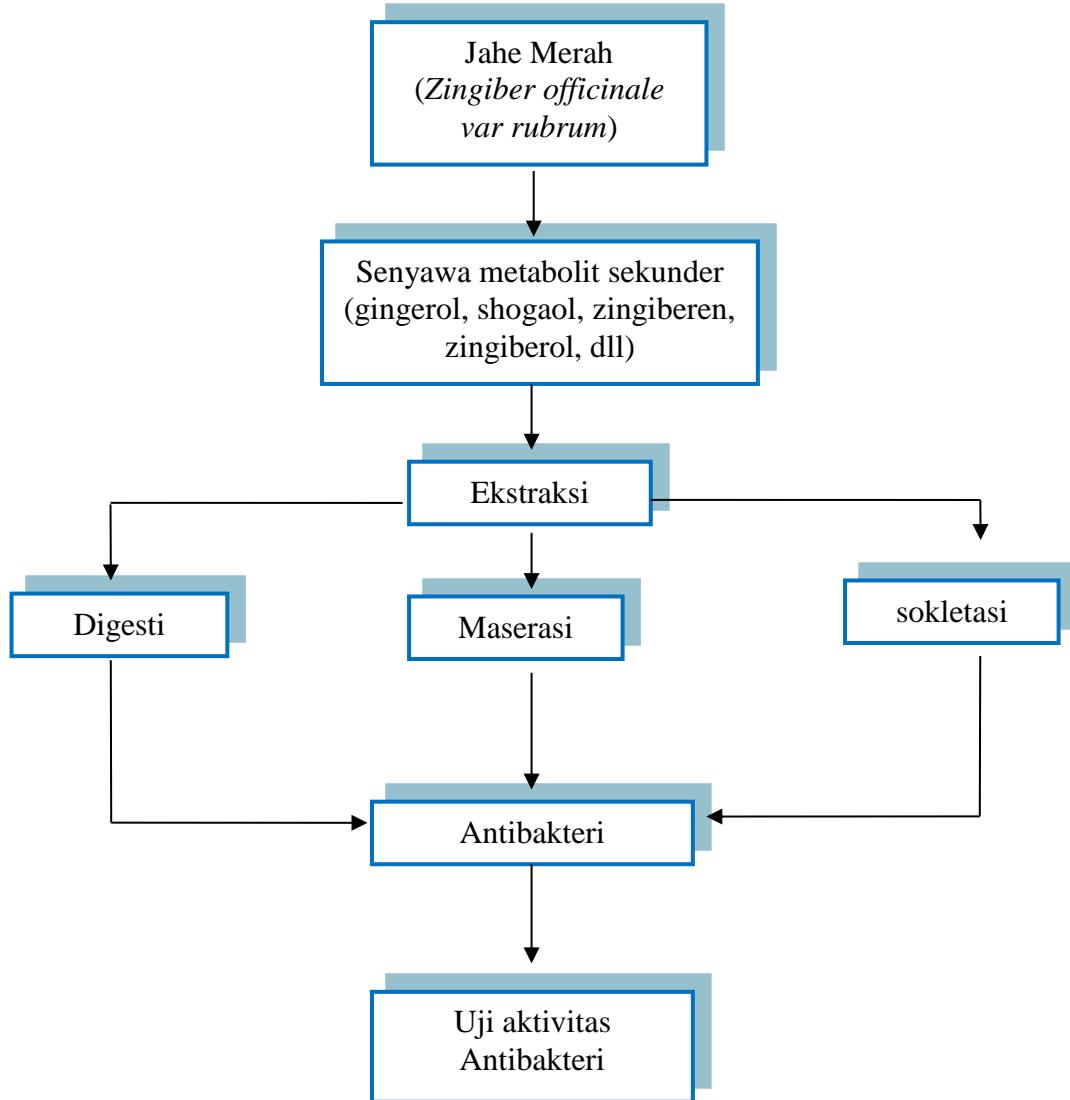
b. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder. Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Kusmiyati, 2007).

2.5 Kerangka Pikir

Adapun kerangka pikir penelitian ini adalah sebagai berikut :



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium FKIP Kimia, Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman, dan Laboratorium Kimia Basic Science pada bulan Desember 2013 – Februari 2014.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : gelas kimia 500 mL dan 1000 mL, gunting, gelas ukur 100 mL, kertas saring Watmann No.1, hotplate, corong, seperangkat alat soklet, vacum rotary evaporator, labu Erlenmeyer 500 mL dan 100 mL, pipet tetes, pipet mikro 100 μ L dan 1000 μ L, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, kawat ose, batang pengaduk, aluminium foil, kertas buram, pinset, botol semprot, oven Memmet, laminary air flow, vortex, spreader/kaca L, inkubator Memmet.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) yang diambil dari Desa Susup, Kecamatan Merigi Sakti, Bengkulu Tengah. Bakteri *Escherichia coli* yang digunakan adalah isolat murni *E.coli* yang diperoleh dari laboratorium IHPT Universitas Bengkulu, etanol 96%, aquades, nutrient agar (NA) untuk media padat, nutrient broth (NB) untuk media cair.

3.3 Prosedur penelitian

3.3.1.Pembuatan Simplisia Jahe merah

Sampel jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) yang digunakan adalah sampel jahe yang telah mencapai usia panen.

1. Rimpang jahe merah dibersihkan dan diiris tipis .
2. Kemudian dikeringkan dengan sinar matahari selama 7-10 hari hingga dapat dipatahkan dengan tangan.

3. Irisan jahe merah yang sudah kering diblender untuk mendapatkan serbuk jahe merah.
4. Serbuk jahe merah diayak menggunakan ayakan 60 mesh.

3.3.2 Ekstraksi Oleoresin Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*)

Proses ekstraksi oleoresin jahe merah ini dilakukan dengan beberapa metode, yaitu :

3.3.2.1. Metode Digesti

Metode digesti dilakukan dengan langkah sebagai berikut :

1. Serbuk jahe merah ditimbang 100 g dan dimasukkan dalam gelas kimia 1000 mL.
2. Ditambah etanol 96% dengan perbandingan 1:5
3. Dipanaskan dan diaduk dengan hotplate selama 120 menit pada suhu 40°C (Lestari, 2006).
4. Didiamkan selama 24 jam sehingga serbuk jahe merahnya mengendap.
5. Disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh ekstrak jahe merah.
6. Ekstrak jahe merah dikentalkan menggunakan vacum rotary evaporator.
7. Ditimbang berat ekstraknya menggunakan timbangan analitik.
8. Dihitung rendemen keringnya (Qoyyimah, 2012).

3.3.2.2. Metode Sokletasi

Metode sokletasi dilakukan dengan langkah sebagai berikut :

1. Serbuk jahe merah ditimbang 10 g dan dimasukkan dalam wadah sampel.
2. Dimasukkan 200 mL etanol 96% ke dalam labu sokletasi.
3. Sampel dipanaskan dengan suhu 40°C (Nursal, 2006).
4. Ekstrak jahe merah dikentalkan menggunakan vacum rotary evaporator

5. Ditimbang berat ekstraknya menggunakan timbangan analitik.
6. Dihitung rendemen keringnya (Qoyyimah, 2012).

3.3.2.3. Metode Maserasi

Metode Maserasi dilakukan dengan langkah sebagai berikut :

1. Serbuk jahe merah ditimbang 300 g dan dimasukkan dalam toples kaca.
2. Ditambahkan 1,5 L etanol 96%.
3. Didiamkan selama 24 jam dengan pengadukan setiap 2 jam.
4. Ekstrak jahe merah dikentalkan menggunakan vacum rotary evaporator.
5. Ditimbang berat ekstraknya menggunakan timbangan analitik.
6. Dihitung rendemen keringnya (Qoyyimah, 2012).

3.3.3.Uji Fitokimia Ekstrak Jahe Merah dari Berbagai Metode Ekstraksi

3.3.3.1. Uji Flavonoid

Sebanyak 30 mg ekstrak kasar etanol dari masing-masing metode ditambahkan 10 mL air panas dengan suhu 70°C. Kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Setelah itu dikocok-kocok. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, jingga atau ungu (Marlianna, 2011)

3.3.3.2. Uji Alkaloid

Sebelum dilakukan uji alkaloid, terlebih dahulu dibuat reagen Wagner dengan cara : sebanyak 1,27 g I₂ dan 2 g KI dilarutkan dalam 5 mL air suling. Kemudian larutan ini diencerkan menjadi 100 mL dengan menambahkan air suling. Endapan yang terbentuk disaring dan larutan disimpan dalam botol berwarna coklat.

Sebanyak 4 g ekstrak etanol dari masing-masing metode ekstraksi ditambahkan H₂SO₄ pekat sebanyak 10 tetes. Kemudian ditambahkan pereaksi Wagner. terbentuknya endapan berwarna coklat menunjukkan sampel positif mengandung alkaloid (Sangi, 2008).

3.3.3.3. Uji Saponin

Sebanyak 30 mg ekstrak kasar etanol dari masing-masing metode ditambahkan 10 mL air panas dengan suhu 70°C. Kemudian tabung dikocok kuat-kuat. Ekstrak positif mengandung saponin jika timbul busa dengan ketinggian 1-10 cm yang bertahan selama 10 menit (Marliana, 2011).

3.3.3.4. Uji Terpenoid/ Steroid

Sebanyak 20 mg ekstrak kasar etanol dari masing-masing metode ditambahkan kloroform dan reagen Lieberman Buchard. Kemudian larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau. Triterpenoid akan memberikan warna merah atau ungu (Marliana, 2011)

3.3.3.5. Uji Fenolik

Sebanyak 30 mg ekstrak kasar etanol dari masing-masing metode ditambahkan 10 mL air panas dengan suhu 70°C. Kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Marliana, 2011).

3.3.4. Pembuatan larutan sampel ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*)

Ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) dibuat dengan vairasi konsentrasi sebagai berikut :

1. Larutan A dengan konsentrasi 5%, yang terdiri dari 0,5 g ekstrak sampel dalam 10 mL larutan.
2. Larutan B dengan konsentrasi 10% yang terdiri dari 1 g ekstrak sampel dalam 10 mL larutan.
3. Larutan C dengan konsentrasi 15% yang terdiri dari 1,5 g ekstrak sampel dalam 10 mL larutan.
4. Larutan D dengan konsentrasi 20% yang terdiri dari 2 g ekstrak sampel dalam 10 mL larutan.

5. Larutan E dengan konsentrasi 25% yang terdiri dari 2,5 g ekstrak sampel dalam 10 mL larutan (Winarsih, 2010).

3.3.5. Pembuatan dan Penempatan Media

3.3.5.1. Pembuatan Media

Media yang digunakan adalah media padat (Nutrient Agar) dan media cair (Nutrient Broth). Untuk membuat media padat, ditimbang sebanyak 7 g serbuk NA dan dimasukkan dalam gelas piala 500 mL. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 250 mL. Lalu dipanaskan di atas hotplate hingga semua bahan larut dan homogen. Setelah itu dimasukkan dalam labu Erlenmeyer dan siap di autoklaf pada suhu 121°C selama 45 menit.

Untuk membuat media cair (NB), ditimbang sebanyak 1 g serbuk NB dan dimasukkan ke dalam gelas piala 500 mL, kemudian ditambah aquades sebanyak 150 mL. Kemudian dipanaskan di atas hotplate sampai semua bahan larut dan homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan selanjutnya siap untuk di autoklaf pada suhu 121°C selama 45 menit (Sari, 2010).

3.3.5.2. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang terbuat dari kaca seperti cawan petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas ukur, spreader disterilisasi dalam oven pada suhu 160°C selama 2 jam.

Alat seperti kawat ose disterilkan dengan pembakaran langsung di atas lampu spiritus. Gelas penutup dan gelas kimia disterilkan secara kimia dengan menggunakan etanol 96% dan di panaskan di atas lampu spiritus.

Untuk proses sterilisasi media yang telah dibuat, cawan petri sebagai tempat media padat dan tabung reaksi yang akan digunakan untuk tempat media cair harus dibungkus kertas terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf (Sari, 2010).

3.3.5.3.Penempatan Media

Setelah media padat di autoklaf, media tersebut dipindahkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 15 mL hingga rata. Sedangkan media cair dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian media yang telah disterilkan tersebut disimpan dalam kulkas dan siap untuk digunakan (Sari, 2010).

3.3.6. Pengenceran Isolat

3.3.6.1.Bakteri

Pengenceran bakteri tersebut dilakukan dengan langkah berikut:

1. Disiapkan 10 mL media cair dalam tabung reaksi. Digesek permukaan media biakan isolat bakteri dengan kawat ose untuk mengambil bakterinya. Kemudian dicelupkan ke dalam 10 mL media cair. Suspensi bakteri dihomogenkan dengan menggunakan alat vortex. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam agar bakteri dapat tumbuh dan berkembang dengan baik.
2. Untuk mengetahui jumlah sel bakteri yang ada pada media cair (NB) dilakukan metode OD (optical density) menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 480 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum untuk mengukur jumlah bakteri dalam media cair nutrient broth (Dewi, 2010). Setelah mengetahui jumlah bakteri yang terdapat dalam media cair tersebut maka peneliti dapat menentukan berapa kali pengenceran yang harus dilakukan agar jumlah sel bakteri dalam cawan biakan $30 \leq$ jumlah koloni bakteri ≤ 300 .
3. Dipipet 1 mL suspensi bakteri dalam media cair pada bagian tengahnya, dimasukkan dalam tabung reaksi 2. Kemudian ditambahkan 9 mL media cair dikocok dengan menggerak tabung reaksi ke atas dan ke bawah. Dalam hal ini bakteri di encerkan 10 kali atau 1×10^1 .

4. Langkah dua (2) dilakukan kembali hingga jumlah pengenceran sesuai dengan yang telah diperhitungkan menggunakan metode OD sebelumnya.

3.3.6.2.Inokulasi Bakteri dan Uji aktivitas antibakterinya

1. Pembuatan standar atau kontrol dengan cara mengambil media padat yang telah membeku, kemudian masing-masing ditetesi dengan suspensi bakteri dari tabung reaksi hasil pengenceran sekitar 100 μL . Kemudian diratakan dengan spreader agar pertumbuhan bakterinya merata dalam cawan petri.
2. Uji aktivitas antibakterinya. Diambil 20 media padat yang telah siap digunakan kemudian diinokulasikan bakteri dari dalam media cair masing-masing sebanyak 100 μL tepat dibagian tengahnya dan diratakan dengan spreader. Setelah itu, kertas cakram yang telah steril diletakkan pada media padat dengan posisi sedemikian hingga, agar proses difusinya merata. Kemudian cakram tersebut ditetesi 3 tetes larutan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*). Setiap cawan petri di tetesi konsentrasi yang berbeda, dengan satu cawan pertri yang tidak diberi perlakuan sebagai kontrol. Lalu dibiarkan selama 15 menit agar lartuan ekstrak jahe tersebut meresap ke dalam media. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Pertumbuhan populasi bakteri diamati dan dibandingkan dengan kontrol. Kemudian dihitung dengan populasi koloni bakteri untuk mengetahui zona hambatan bakteri. Uji ini diulangi sekali lagi untuk diambil rata-rata.

3.4 Analisa Data

Data hasil penelitian di laboratorium adalah diameter zona bening yang terlihat pada media yang telah diberi perlakuan dengan variasi konsentrasi ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*). Untuk melihat hubungan konsentrasi ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) dengan diameter zona bening dibuat grafik dimana sumbu x merupakan konsentrasi ekstrak

dan sumbu y merupakan diameter zona bening. Lalu tentukan konsentrasi hambat minimum (KHM), yaitu konsentrasi saat ekstrak mulai mampu menghambat pertumbuhan. Selain itu juga akan dianalisa menggunakan statistik parametrik yaitu One Way ANOVA (Anova satu jalur). Anova merupakan bagian dari metode analisis statistika yang tergolong uji komparatif (perbandingan) lebih dari dua rata-rata. Gunanya adalah untuk menguji kemampuan generalisasi, maksudnya dari signifikansi hasil penelitian dapat dilihat data sampel dapat dianggap mewakili populasi atau tidak. Rumus ANOVA atau uji F adalah sebagai berikut :

$$F \text{ hitung} = \frac{JKR_A}{JKR_D}$$

Keterangan :

JKR_A = Jumlah Kuadrat Rerata Antar Group

JKR_D = Jumlah Kuadrat Rerata Dalam group

Untuk menghitung jumlah kuadrat rerata antar group (JKR_A) dengan rumus :

$$JK_A = \sum \frac{(\sum X_{Ai})^2}{n_{Ai}} - \frac{(\sum X_T)^2}{N} \text{ untuk } db_A = A - 1$$

$$JKR_A = \frac{JK_A}{db_A}$$

Untuk menghitung jumlah kuadrat rerata dalam group (JKR_D) dengan rumus :

$$JK_D = \sum X_T^2 - \sum \frac{(\sum X_{Ai})^2}{n_{Ai}} \text{ untuk } db_D = N - A$$

$$JKR_D = \frac{JK_D}{db_D}$$

Dimana:

$$\frac{(\sum X_T)^2}{N} = \text{sebagai faktor koreksi}$$

N = jumlah keseluruhan sampel

A = Jumlah keseluruhan group sampel

Jika $F_{\text{hitung}} \geq F_{\text{table}}$, maka H_0 ditolak berarti data signifikan dan dapat mewakili populasinya (Riduwan, 2013).