### I PENDAHULUAN

Dalam menyusun laporan penelitian ada beberapa hal yang harus diperhatikan, yang pertama adalah pendahuluan.Pendahuluan menjelaskan gambaran dan alasan penelitian itu dilakukan. Maka di dalam pendahuluan membahas mengenai latar belakang, identifikasi masalah, maksud dan tujuan penelitian, manfaat penelitian, kerangka pemikiran, hipoteis penelitian, waktu dan tempat penelitian.

### 1.1.Latar Belakang

Lengkuas, dikenal sebagai tanaman rempah yang umum digunakan dalam masakan ataupun sering di gunakan dalam pembuatan obat-obat tradisional sehingga lengkuas termasuk tanaman rempah yang multiguna dan juga memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Menurut data statistik dari kementrian pertanian tahun 2013 hasil panen lengkuas di Jawa Barat sekitar 1,72 ton pertahun. Tanaman lengkuas mempunyai dua macam, yaitu lengkuas merah dan putih.

Lengkuas adalah salah satu rempah yang dapat menghambat mikroba pembusuk dan mengawetkan makanan. Sifat anti mikroba berasal dari kandungan minyak atsiri sehingga lengkuas berfungsi sebagai bakterisida (pembunuh bakteri), bakteri statis (penghambat pembuakan bakteri), fungisida (membunuh jamur), dan garmisida (penghambat spora bakteri) dengan di tumbuk atau dihancurkan hingga halus hingga terbentuk bubur lalu di oleskan pada bahan (Fais, 2010).

Bagian tanaman dari lengkuas merah *Alpinia purpurata* yang sering digunakan adalah rimpang. Rimpang lengkuas mengandung minyak atsiri yang

terdapat pada ekstraknya dan terdiri dari metilsinamat, sineol, kamfer, δ-pinen, galangin, dan eugenol. Rimpang lengkuas juga mengandung kamfor, galangol, seskuiterpen dan kristal kuning (Hembing dan Wijayakusuma, 2001). Selain itu, rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* mengandung senyawa flavonoid, kaempferol-3-rutinoside dan kaempferol-3-oliucronide (Victorio *et al.*, 2009).

Rimpang tanaman ini mengandung 1% minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri dari metil-sinamat 48%, sineol 20% - 30%, eugenol, kamfer 1%, seskuiterpen, ∂-pinen, galangin dan lain-lain. Minyak atsiri pada bijinya adalah 1"-acetoxychaviol acetate, 1'-acetoxyeugenol acetat, caryophyllenol I dan 5-epimer caryophyllenol II, pentadecane, heptadec-7-enemethyl ester merupakan senyawa monoterpen teroksidasi yang diduga bersifat anti bakteri yang kuat. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Sasidharan dan Menon (2010) yang melaporkan komponen monoterpen labih aktif menghambat bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dibandungkan dengan hidrokarbon sesquiterpene.

Minyak atsiri lengkuas merah memiliki aktivitas antibakteri yang bersifat moderat terhadap bakteri patogen dan perusak pangan. Berdasarkan nilai MIC MBC sensitivitas bakteri uji terhadap minyak atsiri lengkuas merah dengan konsentrasi 1% menurun berturut-turut dari *B. cereus* > *E. coli* > *S. typhimurium* > *P. aeruginosa*. Sensitivitas bakteri Gram positif dan Gram negatif terhadap minyakesensial ini menunjukkan potensi minyak esensial lengkuas merah untuk digunakan sebagai pengawet alami di industri pangan (Tita dkk, 2015).

Zona hambatan terhadap pertumbuhan bakteri akan semakin besar seiring dengan peningkatan konsentrasi yang ditambahkan. Adanya perbedaan zona hambatan pada masing-masing konsentrasi disebabkan karena perbedaan besarnya zat aktif yang terkandung pada konsentrasi tersebut. Semakin besar suatu konsentrasi, semakin besar pula komponen zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga zona hambatan yang terbentuk juga berbeda (Brooks *et al.* 2005).

Pseudomonas adalah salah satu bakteri proteolitik gram. Bakteri tersebut secara umum aktif melakukan dekomposisi aerobik dan biodegradasi. Pada daging merah yang disimpan pada temperatur dingin, bakteri pembusuk yang banyak berkembang adalah *Pseudomonas* aeroginosa, dan daging tersebut akan membusuk jika jumlah bakteri ini telah mencapai 107–108/cm2 pada daging (Wicaksono, 2010).

Bacillus adalah salah satu bakteri proteolitik gram positif. Bakteri tersebut berperan dalam pembusukan bahan bahan berprotein. Pada pembusukan daging, mikroorganisme yang menghasilkan enzim proteolitik mampu merombak protein-protein atau biasa disebut denaturasi protein. Protein menjadi peptida atau asam asam amino mengakibatkan bau busuk pada bahan pangan karena terbentuknya sulfida, amonia, methyl sulfida, amin dan senyawa bau yang lainnya (Rachmawati, 2012).

Ikan nila sebagai bahan makanan mengandung protein tinggi dan mengandung asam amino esensial yang diperlukan oleh tubuh. Namun ikan nila merupakan salah satu bahan makanan yang mudah rusak setelah di panen. Ikan nila yang telah di panen, akan terjadi perubahan-perubahan yang mengarah kepada terjadinya pembusukan yang disebabkan adanya aktivitas enzim, kimiawi dan bakteri.

Enzim yang terkandung dalam tubuh ikan akan merombak bagian-bagian tubuh ikan dan mengakibatkan perubahan rasa (flavor), bau (odor), rupa (appearance) dan tekstur (texture). Aktivitas kimiawi adalah terjadinya oksidasi lemak daging oleh oksigen. Aktivitas kimia menghasilkan komponen yang yang lebih sederhana. Pertumbuhan bakteri dapat menyebabkan dekomposisi pada ikan khususnya bakteri proteolitik yang dapat digolongkan menjadi beberapa kelompok, kelompok pertama bakteri aerobik atau anaerobik fakultatif, tidak membentuk spora, misalnya pseudomonas dan proteus, kelompok kedua bakteri aerobik dan anaerobik fakultatif membentuk spora misalnya basillus, kelompok ketiga yaitu bakteri anaerobik pembentuk spora misalnya clostridium (Ferdiansyah, 2014).

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas senyawa aktif pada rimpang lengkuas tersebut dan dengan berbagai konsentrasi dapat digunakan sebagai antibakteri dan komponen-komponen senyawa yang terkandung didalamnya untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

#### 1.2.Identifikasi Masalah

- 1. Bagaimana kemampuan daya hambat lengkuas terhadap pertumbuhan bakteri gram positif *Bacillus subtilis* dan gram negatif *Psedomonas aeroginosa*?
- 2. Bagaimana kemampuan lengkuas merah dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan?
- 3. Bagaimana pengaruh konsentrasi maksimum dan konsentrasi maksimum lengkuas dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada bakteri *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeroginosa*, dan bakteri pada ikan?

### 1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari proposal ini adalah untuk penelitian mengenai memanfaatkan lengkuas untuk menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk tertentu dan menetapkan konsentrasi dari lengkuas yang paling efektif sebagai antimikroba pada ikan.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui kemampuan senyawa antibakteri di dalam lengkuas dalam menghambat dan membunuh bakteri pembusuk tertentu yang ada pada ikan.

#### 1.4.Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah diharapkan dapat menambah pengetahuan khususnya yang berkaitan dengan bahan yang dapat digunakan sebagai antibakteri, pengawetan suatu produk, dan memberikan informasi mengenai penggunaan lengkuas sebagai pengawet alami ikan.

## 1.5.Kerangka Pemikiran

Pengawetan pada prinsipnya adalah penghambatan kerusakan oleh bakteri dan bisa dilakukan dengan penggunaan senyawa antimikroba. Tujuan pengawetan tersebut ditentukan oleh waktu penyimpanan komoditi (Komariah,2004). Contoh salah satu pengawet alami yaitu tanaman jahe termasuk Suku Zingiberaceae, merupakan salah satu tanaman rempah-rempahan yang telah lama digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman jahe terutama golongan flavonoid, fenol, terpenoid, dan minyak atsiri (Benjelalai, 1984). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan suku

Zingiberaceae umumnya dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen yang merugikan kehidupan manusia. Ekstrak Lengkuas (Suku Zingiberaceae) dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan mikroba, diantaranya bakteri *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus*, jamur *Neurospora sp, Rhizopus sp* dan *Penicillium sp* (Nursal, 2006).

Penelitian (Eni Purwani, 2006) menyatakan bahwa ekstrak lengkuas, kunyit, dan jahe dapat digunakan sebagai pengawet alami pengganti formalin pada daging. Rata-rata daya hambat mikrobia pada ekstrak kunyit sebesar 3,22 mm dengan hambatan terbesar pada konsentrasi 80% dan terkecil 35%. Hasil uji anova daya hambat mikrobia pada konsentrasi yang berbeda, nilai P>0.01. Dengan demikian tidak ada perbedaan besar daya hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak kunyit, sehingga pada ekstrak kunyit konsentrasi 35% memiliki besar hambatan yang tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 80%, sehingga pada konsentrasi 35% merupakan konsentrasi yang optimum untuk menghambat mikrobia perusak dan patogen. Rata-rata daya hambat mikrobia pada ekstrak jahe sebesar 4,79 mm dan ekstrak laos sebesar 2,38 mm. Hasil uji anova, terdapat perbedaan daya hambat mikrobia pada konsentrasi yang berbeda baik pada jahe mapun pada laos (P<0,01). Dengan demikian terdapat perbedaan pada konsentrasi yang berbeda. Untuk melihat perbedaan tersebut dilanjutkan uji dunett. Berdasarkan uji dunett, terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi 35% dengan 80% (P<0,01) untuk jahe dan laos. Dengan demikian konsentrasi yang optimum untuk menghambat pertumbuhan mikrobia pada ekstrak jahe maupun laos adalah pada konsentrasi 80%.

Rimpang lengkuas yang digunakan sebagai bahan baku adalah rimpang segar, umur panen sedang (6-8 bulan) karena komponen aktif pada umur rimpang muda dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi daripada rimpang umur tua (Rahayu dkk., 2008). Peneliti lain melaporkan kadar minyak lengkuas merah bervariasi antara 0,15-1,5 % (Jamal dkk., 1996), dan dari rimpang lengkuas putih umur 6-12 bulan asal Thailand diperoleh kadar minyak esensial 3 % (Prakatthagomol dkk., 2011). Seperti jahe, maka kadar minyak esensial dari lengkuas merah juga dipengaruhi umur panen bentuk rimpang segar atau kering, serta metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan (Burt, 2004).

Komponen minyak esensial lengkuas merah pada penelitian ini secara umum didominasi oleh kelompok senyawa monoterpene (teroksidasi, hidrokarbon, alkohol), asam, dan seskuiterpene hidrokarbon. Komponen monoterpen dan seskuiterpen dari ektrak dan minyak esensial lengkuas memiliki aktivitas antibakteri yang kuat (Chudiwal dkk., 2010).

Komponen bioaktif lengkuas yang bersifat larut air adalah golongan senyawa fenolik (Robinson 1995). Penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (1992, dalam Sukmawati, 2007) melaporkan bahwa rimpang lengkuas merah dan putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri maupun jamur, pada *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* dengan 0,871 mg/ml dan pada *Bacillus subtilis* dan *Mucor gypseum* dengan 1,741 mg/ml. Itokawa & Takeya (1993) menjelaskan bahwa tanaman lengkuas mengandung golongan senyawa flavonoid, fenol dan terpenoid.

Rimpang lengkuas merah mengandung ±1% minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri dari metil-sinamat 48%, sineol 20% - 30%, eugenol, kamfer 1%, seskuiterpen, ∂-pinen, galangin dan lain-lain. Minyak atsiri pada bijinya adalah 1"-acetoxychaviol acetate, 1'-acetoxyeugenol acetat, caryophyllenol I dan 5-epimer caryophyllenol II, pentadecane, heptadec-7-enemethyl ester.

Menurut Kunia (2006) menyatakan bahwa komponen minyak atsiri yang terkandung di dalam ekstrak rimpang lengkuas dapat bersifat sebagai antimikroba.Zat antimikroba dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri), fungisidal (membunuh kapang), fungistatik (menghambat pertumbuhan kapang), ataupun germisidal (menghambat germinasi spora bakteri).

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan, bahwa minyak atsiri pada ekstrak rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* K. Schum dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 80% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* karena diameter zona hambat yang terbentuk masing-masing konsentrasi > 14 mm, seperti yang telah dikemukakan oleh Lay (1994), bahwa senyawa yang sensitif dan efektif untuk dijadikan senyawa antimikroba adalah senyawa yang mampu menunjukkan efektivitas dengan luas diameter hambatan > 14 mm. Hal ini juga dijelaskan oleh Elgayyar *et al.*, (2001) bahwa ekstrak tumbuh-tumbuhan dapat dikelompokkan berdasarkan diameter penghambatan menjadi tiga kategori yaitu tinggi (> 11 mm), sedang (> 6 mm - < 11 mm) dan rendah (< 6 mm) (Yulinar, 2009).

Penelitian (Tita dkk, 2015) menunjukkan kedua jenis minyak esensial dari jahe merah dan lengkuas merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji. Minyak esensial jahe merah dapat menghambat pertumbuhan semua bakteri uji dengan zona hambat rata-rata 7,17-10,33 mm, sedangkan minyak esensial lengkuas merah menghambat bakteri ujidengan zona hambat rata-rata 7,25-11,17 mm. Tetrasiklin 0,1 % v/v sebagai kontrol positif menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi dengan rata-rata zona hambat 19,67-24,33 mm, sedangkan DMSO 100% v/v sebagai pelarut minyak esensial (kontrol negatif) tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Minyak esensial jahe merah dan lengkuas merah padapenelitian ini memiliki aktivitas antimikroba yang bersifat sedang/moderat dengan kisaran nilai 7,17-11,17 mm. Seperti dijelaskan Elgayyar dkk.(2001), aktivitas antimikroba ekstrak tumbuh-tumbuhan dapat dikelompokkan berdasarkan diameter penghambatan pada media agar menjadi tiga kategori, yaitu : tinggi ( > 11mm), sedang ( > 6mm - < 11 mm) dan rendah (< 6 mm).

Bakteri *B. cereus* lebih sensitif terhadap minyak esensial jahe merah maupun lengkuas merah dibandingkan bakteri uji lainnya. Aktivitas antibakteri kedua minyak esensial dapat menghambat bakteri Gram negatif *E. coli* dan *S. typhimurium*, hal ini sejalan dengan hasil penelitian Sivasothy dkk (2011) dan Prakatthogomol dkk (2011), tapi berlainan dengan Natta dkk. (2008) yang melaporkan minyak esensial jahe (*Z. officinale*) dan lengkuas (*A. galanga*) sama sekali tidak dapat menghambat *E.coli*. Singh dkk. (2008) melaporkan padapengujian menggunakan metode sumur difusi maka bakteri *E.coli* bersifat resisten terhadap minyak esensial, ekstrak oleoresin

(metOH, etOH, CCl4) maupun antibiotik sintetik (streptomycin dan chloramphenicol), namun pada pengujian menggunakan metode difusi agar maka hanya minyak esensial jahe yang menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap  $E.\ coli\ (10.4\pm1.8\ mm).$ 

Minyak esensial jahe merah dan lengkuas merah pada penelitian ini dapat menghambat P. aeruginosa walaupun aktivitasnya bersifat lemah. Aktivitas antimikroba minyak esensial dari jahe dapat menghambat *P. aeruginosa* dengan zona hambat 7,25 ± 0,43 mm, hasil yang hampir sama dilaporkan Sasidharan dan Menon (2010) dimana minyak esensial jahe putih menghambat *P.aeruginosa* dengan zona hambat 7,11 ± 0,06 mm. Komponen utama dari minyak esensial jahe merah adalah trimetyl-heptadien-ol, sedangkan dari lengkuas merah yaitu 1.8-cineole, keduanya merupakan senyawa monoterpen teroksidasi yang diduga bersifat antibakteri yang kuat. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Sasidharan dan Menon (2010) yang melaporkan komponen monoterpen lebih aktif menghambat bakteri B. subtilis dan P. aeruginosa dibandingkan dengan hidrokarbon sesquiterpene. Aktivitas antimikroba komponen-komponen hidrokarbon lebih rendah dibandingkan komponen-komponen teroksigenasi. Walaupun demikian, menurut Mayachiew dan Devahastin (2008) komponen-komponen minor dapat berperan sebagai factor kritis atau penentu terhadap daya aktivitas antimikroba, karena dimungkinkan adanya efek sinergis diantara berbagai komponen pembentuk minyak esensial.

Burt (2004) menjelaskan bahwa turunan senyawa terpenoid seperti *geranial*, neral, geraniol, 1,8-cineole, -caryophyllene, -pinene, dan camphor di duga terlibat

pada berbagai mekanisme kerusakan membran sitoplasma bakteri, mengkoagulasi komponen sel dan mengganggu *Proton Motive Force* (PMF). Senyawa antibakteri minyak esensial seperti *thymol, eugenol* dan *carvacrol* dapat menyebabkan kerusakan membran seluler, melepaskan ATP intraseluler dan komponen lain dari mikroba.

Akumulasi terpen pada membran juga menyebabkan hilangnya integritas membran dan PMF. Rusaknya PMF dan berkurangnya ATP akhirnya akan memicu kematian sel. Seperti pada kerja bahan pengawet umumnya, minyak esensial akan menyebabkan kebocoran ion, ATP, asam nukleat dan asam amino dari mikroba target. Minyak esensial dapat mencapai periplasma bakteri Gram-negatif melalui protein porin dari membran luar. Permeabilitas membran sel tergantung pada komposisinya dan hidrofobisitas komponen yang melewatinya (Ousallah dkk., 2006).

Daerah hambatan yang dihasilkan minyak atsiri rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* K. Schum disebabkan karena minyak atsiri pada ekstrak rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* K. Schum mengandung senyawa, seperti sineol 12,64%, similiaritas 98% dan dodekatriena 12,86% yang berperan penting sebagai antibakteri (Sukandar *et al.* 2009). Mulyaningsih (1996) yang menganalisis minyak atsiri lengkuas merah juga menemukan adanya berbagai senyawa yang terkandung di dalamnya, seperti β-pinen, α-terpineol, 4-alifenil asetat, α-famesen, β-famesen, kariofilen, germakren, 3,7,11-termetil-1,6,10-dodekatrien-3ol (Yulinar, 2009).

Menurut Midun (2012) kelompok perlakuan ekstrak lengkuas merah dengan konsentrasi 1 ml ekstrak murni didapat rata-rata zona hambat *S. aureus* sebesar 15 mm. Konsentrasi tersebut memberikan daya hambat terbesar dari efektifitas ekstrak

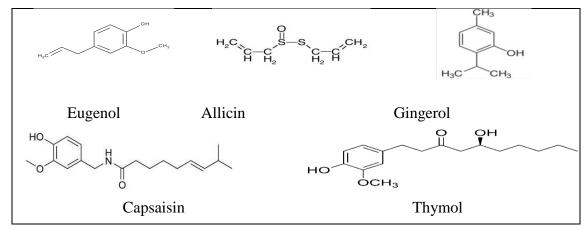
lengkuas merah. Pada konsentrasi 1 : 1 didapat rata-rata zona hambat 11,3 mm; pada konsentrasi 1 : 2 didapat rata-rata zona hambat 7,3 mm; pada kontrol positif didpat rata-rata 45,6 mm; dan sedangkan pada kontrol negative tidak menunjukan zona hambat.

Menurut Simran (2009) pada ekstrak rimpang lengkuas merah (Alpinia purpurata K.Schum) dengan menggunakan pelarut metanol, konsentrasi 5,75 % memiliki daya hambat tertinggi terhadap Escherichia coli. Sedangkan rimpang lengkuas merah (Alpinia purpurata K.Schum) dengan menggunakan pelarut n-heksana, konsentrasi 4,25 % memiliki daya hambat yang tertinggi terhadap Escherichia coli. Secara keseluruhan daya hambat ekstrak rimpang lengkuas merah (Alpinia purpurata K.Schum) terhadap Escherichia coli yang diekstrak dengan menggunakan n-heksana lebih besar dibandingkan daya hambat ekstrak rimpang lengkuas merah (Alpinia purpurata K.Schum) yang diekstrak dengan menggunakan pelarut methanol.

Terjadinya penghambatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri pada diduga disebabkan karena kerusakanyang terjadi pada komponen struktural membran sel bakteri. Senyawa golongan terpenoid dapat berikatan dengan protein dan lipid yang terdapatpada membran sel dan bahkan dapat menimbulkan lisis pada sel. Volk dan Wheeler (1988) mengemukakan bahwa membran sel yang tersusun atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa dan

ion) melalui membran sel sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya.

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh minyak atsiri disebabkan karena minyak atsiri dapat menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran dan mengganggu sistem transport. Senyawa antimikroba dapat menghambat pertumbuhan kapang, kamir, dan bakteri perusak dan patogen pangan baik gram negatif maupun gram positif. Bakteri gram positif lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram negatif (Dorman dan Deans, 2000). Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan susunan dinding sel. Dinding sel bakteri gram positif 90% terdiri atas lapisan peptidoglikan, selebihnya adalah asam teikoat dan memiliki struktur lapis tunggal, sedangkan bakteri gram negatif komponen dinding selnya mengandung 20-50% peptidoglikan, selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida, dan lipoprotein serta memiliki struktur multilapis (multilayer). Selain itu, bakteri dalam bentuk sel vegetatif juga lebih rentan terhadap aktivitas antibakteri dalam rempah-rempah dibandingkan dalam bentuk sporanya.



Gambar 1. Contoh Struktur Molekul Senyawa Antibakteri

Daging ikan adalah salah satu dari produk pangan yang mudah rusak disebabkan daging kaya zat yang mengandung nitrogen, mineral, karbohidrat, dan kadar air yang tinggi serta pH yang dibutuhkan mikroorganisme perusak dan pembusuk untuk pertumbuhannya. Pertumbuhan mikroorganisme ini dapat mengakibatkan perubahan fisik maupun kimiawi yang tidak diinginkan (Komariah,2004).

Daging ikan adalah salah satu dari produk pangan yang mudah rusak disebabkan daging kaya zat yang mengandung nitrogen, mineral, karbohidrat, dan kadar air yang tinggi serta pH yang dibutuhkan mikroorganisme perusak dan pembusuk untuk pertumbuhannya. Pertumbuhan mikroorganisme ini dapat mengakibatkan perubahan fisik maupun kimiawi yang tidak diinginkan (Nursal,2006).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada 16 isolat ikan nila (Oreochromis niloticus), setelah dilakukan identifikasi dan determinasi diperoleh 7 spesies mikroba. Dari 16 isolat ikan nila tersebut hanya diperoleh 10 isolat ikan nila yang mempunyai respon hambatan dan diperoleh 4 jenis mikroba perusak dari 10 isolat ikan nila tersebut. Mikroba yang tidak merusak ikan nila adalah jenis *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacteraerogenes*dan *Bacillus cereus* (Purwani dkk, 2008). Mikroba ini adalah jenis mikroba patogen dan tidak terhambat pertumbuhannya oleh ekstrak jahe. Ketujuh jenis mikroba yang terdapat pada ikan nila yaitu *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas aerugenosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella* 

pneumonia yang merupakan bakteri gram negative dan juga Bacillus alvei, Bacillus licheniformis, Bacillus cereusyang merupakan bakteri gram positif.

Besar daya hambat mikroba jenis gram negatif dari ekstrak jahe dengan konsentrasi ekstrak lengkuas 0, 50%, 60%, 70% terhadap bakteri gram negative *Acinetobacter calcoaceticus, Pseudomonas aerugenosa, Enterobacter aerogenes* masuk terhadap kategori sedang dengan rata-rata diameter zona terang 14 mm – 18 mm. Sedangkan terhadap bakteri gram positif untuk bakteri *Bacillus alvei* masuk terhadap kategori kuat dengan diameter zona terang sebesar 24 mm – 25 mm, untuk bakteri *Bacillus licheniformis, Bacillus cereus* masuk terhadap kategori sedang dengan diameter rata-rata zona terang 14 mm -15 mm.

Respon hambatan mikroba gram positif lebih kuat dibandingkan mikroba gram negatif. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Iskandar *et al* (2009), kemungkinan disebabkan oleh perbedaan komponen penyusun dinding sel antara mikroba gram positif dan gram negatif. Dinding sel mikroba gram positif banyak mengandung teikoat dan asam teikoronat serta molekul polisakarida. Menurut Irianto (2006), komponen kimia ini melindungi sel dari dari kegiatan lisis enzim, sedangkan zat-zat lain menentukan reaksi sel pada pengecatan gram dan ada pula yang menarik dan mengikat bakteriofage. Penelitian serupa telah dilakukan oleh Nursal *et al* (2006), yang meneliti tentang bioaktifitas ekstrak jahe dalam menghambat pertumbuhan koloni mikroba *Escherichia coli* (jenis mikroba gram negatif) dan *Bacillus subtilis* (jenismikroba gram positif).

Berdasarkan hasil-hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa senyawa fenol, terpenoid dan flavonoid merupakan senyawa produk metabolisme sekunder tumbuhan yang aktif menghambar pertumbuhan bakteri. Ekstrak akar *Acanthus ilicifolius* dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Vibrio parahaemolyticus sp* (Nursal, 1997) dan *Vibrio sp* (Nursal, 1998).Senyawa triterpenoid yang terdapat pada ekstrak daun *Premna schimperi* dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 20-25 μg/ml (Habtemariam dkk. , 1990).

## 1.6. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah diambil dari berbagai sumber penelitian, maka dapat ditarik suatu hipotesis yaitu sebagai berikut:

- 1. Diduga senyawa aktif yang terdapat dalam lengkuas merah memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.
- 2. Diduga senyawa aktif yang terdapat dalam lengkuas merah memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri yang terdapat pada ikan nila.
- Diduga dengan bermacam konsentrasi dapat di ketahui konsentrasi minimal dan maksimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif pada ikan nila.

# 1.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dimulai pada bulan September 2015 sampai selesai yang bertempat di Laboratorium Universitas Pasundan, Jl. Dr. Setiabudhi 193 Bandung.