

Daya Antibakteri Infusa Umbi Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap Berbagai Kuman Penyebab Diare In Vitro

(The Antibacterial Activity of Temu Hitam (Curcuma aeruginosa Roxb) Tuber Infusion against Several Bacteria Causing Diarrhoea in Vitro)

Lilis Suryani*

*Department of Microbiology, School of Medicine, Muhammadiyah University Yogyakarta, Jl. Pendidikan, Sonopakis Yogyakarta.

Alamat korespondensi :

Dra. Lilis Suryani, M.Kes.

Department of Microbiology, School of Medicine Muhammadiyah University Yogyakarta, Jl. Pendidikan, Sonopakis Yogyakarta telp (0274) 374320 fax (0274) 374320.

ABSTRACT

Diarrhoea remain a serious health problem in Indonesia. People often use the medicine plant to cure diarrhoea. The medicine plant like Temu Hitam tuber (*Curcuma aeruginosa* Roxb) has been used commonly against skin diseases, respiratory diseases as well as digestive diseases (diarrhoea). Microorganism causing diarrhoea include *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* and *Vibrio cholerae*.

This research is an experimental laboratory study to observe the antibacterial activity of Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) tuber infusion against *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, and *Vibrio cholerae*.

The antibacterial activity of Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) tuber infusion has been tested by the determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) using tube dilution method.

The result of this study shows that the MIC and the MBC of Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) tuber infusion against *Escherichia coli* is 22,2gr% and >25gr%, *Shigella dysenteriae* 11,1gr% and >25gr%, *Vibrio cholerae* 1,91gr% and >25gr% respectively.

As a conclusion, it is obvious that *Temu hitam* (*Curcuma aeruginosa* Roxb) tuber infusion possess an antibacterial activity against *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae* and *Escherichia coli* as bacteriostatic. *Temu hitam* (*Curcuma aeruginosa* Roxb) tuber infusion has the highest antibacterial activity against *Vibrio cholerae* while the lowest antibacterial activity is shown against *Escherichia coli*.

KEY WORDS : Temu Hitam tuber (*Curcuma aeruginosa* Roxb), antibacterial activity.

MIC, MBC

ABSTRAK

Di Indonesia penyakit diare (mencret) masih merupakan masalah serius di bidang kesehatan terutama di daerah pedesaan. Masyarakat di pedesaan sering menggunakan tanaman obat untuk mengobati diare. Salah satu bahan tanaman yang berkhasiat obat adalah umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb). Tanaman ini banyak dipakai sebagai obat tradisional mempunyai khasiat untuk meningkatkan nafsu makan, mengobati penyakit kulit, ruam, borok, obat mulas-mulas, peluruh angin, penambah darah, batuk dan sariawan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap beberapa bakteri penyebab diare yaitu: *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

Daya antibakteri ditunjukkan dengan melihat kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap kuman tersebut dengan metode pengenceran tabung (*tube dilution method*).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa KHM infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) berturut-turut terhadap kuman *Escherichia coli* 22,2gr%, *Shigella dysenteriae* 11,1gr% dan *Vibrio cholerae* 1,91gr%. KBM infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) berturut-turut terhadap kuman *Escherichia coli* >25gr%, *Shigella dysenteriae* >25gr% dan *Vibrio cholerae* >25gr%.

Dari hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) mempunyai daya antibakteri terhadap kuman *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) mempunyai daya antibakteri yang kuat terhadap kuman *Vibrio cholerae* dan lemah terhadap kuman *Escherichia coli*. Daya antibakteri infusa umbi temu hitam terhadap *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, dan *Shigella dysenteriae* bersifat bakteriostatik.

Kata kunci: Umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb), daya antibakteri, KHM,

KBM

PENDAHULUAN

Diare adalah suatu gejala klinis dari gangguan saluran pencernaan (usus) yang ditandai dengan bertambahnya frekuensi defekasi lebih dari biasanya (berulang-ulang), disertai adanya perubahan bentuk dan konsistensi dari feses menjadi lembek atau cair. Di Indonesia penyakit diare (mencret) masih merupakan masalah di bidang kesehatan terutama di daerah pedesaan dan 60-80% diderita oleh anak balita.

Di Indonesia banyak tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat terutama di pedesaan untuk mengobati diare. Pemanfaatan temu-temuan masih banyak digunakan terutama masyarakat di pedesaan, untuk keperluan sehari-hari seperti untuk bumbu memasak, menjaga kesehatan dan untuk mengobati penyakit.

Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) termasuk tanaman obat yang mempunyai khasiat sebagai antibakteri. Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) sebagai obat tradisional mempunyai khasiat untuk meningkatkan nafsu makan, mengobati penyakit kulit seperti kudis, ruam dan borok, obat mulas-mulas, peluruh angin, penambah darah schabis melahirkan, mengobati kecacingan, obat batuk, asma dan sariawan ¹.

Kandungan kimia yang terdapat dalam umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) mengandung minyak atsiri, zat pati, damar, lemak, dan zat warna biru ^{1,2}.

Minyak atsiri yang terkandung dalam umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) dapat dimanfaatkan sebagai antiseptik, antibakteri, antifungi, untuk aroma makanan, parfum kosmetik dan aroma sabun ³.

Sehubungan dengan adanya indikasi umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) mempunyai khasiat antidiare seperti tersebut di atas, maka penting dilakukan penelitian tentang daya antibakteri infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap beberapa bakteri penyebab diare yakni *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae*.

TUJUAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui daya antibakteri infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap beberapa kuman penyebab diare seperti *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini menggunakan medium agar Mc Conkey, agar Nutrien, dan medium Brain Heart Infusion (BHI). Bahan lain yang dipakai dalam penelitian ini adalah larutan standar Brown III, larutan NaCl fisiologis, akuades steril, infusa umbi temu hitam dengan konsentrasi 50gr%.

Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri berdiameter 10 cm, tabung reaksi, rak tabung reaksi, lampu spiritus, ose, pipet ukur, kolf Erlenmeyer, autoklaf Jericho JE-350A, oven Memmert, *Laminar Air Flow*, inkubator Memmert, timbangan Sartorius BP 160P, dan kapas.

Bakteri uji dalam penelitian ini digunakan bakteri strain baku (standar) *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella dysenteriae* 2a 1992/2/Belgia, dan *Vibrio cholerae* 01 1986/1/2/Belgia.

Cara Kerja

a. Pembuatan sediaan infusa umbi temu hitam

Umbi temu hitam yang digunakan berupa rimpang-rimpang yang bersih dan sudah dibebaskan dari sisa air cucian dan dijemur di bawah sinar matahari selama beberapa hari. Kemudian dibuat irisan tipis-tipis melintang dengan ketebalan antara 4-5 mm. Selanjutnya irisan-irisan tersebut dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung dengan menutup kain hitam atau dikeringkan dengan mesin pengering sampai kering dan dibuat serbuk dengan cara digiling 2. Infusa merupakan cairan yang dibuat dengan menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C, selama 15 menit.

Cara pembuatan infusa umbi temu hitam dengan konsentrasi 50 gr% adalah dengan melarutkan 50 gr simplisia dalam panci infusa dengan akuades steril 100 ml. Selanjutnya panci dipanaskan di atas pemanas air selama 15 menit pada suhu 90°C sambil sekali-sekali diaduk. Saring selagi panas dengan menggunakan kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga volume menjadi 100 ml kembali⁴.

b. Pemeriksaan sterilitas infusa umbi temu hitam

Infusa umbi temu hitam yang diperoleh setelah disaring dengan filter bakteri diuji kesterilannya dengan cara diteteskan sebanyak 5 ml larutan infusa kedalam 2 tabung perbenihan yang mengandung brain heart infusion cair. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika tidak terjadi kekeruhan pada tabung perbenihan maka infusa umbi temu hitam dinyatakan steril.

c. Penyiapan bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan berupa *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella dysenteriae* 2a 1992/2/Belgia, dan *Vibrio cholerae* 01 1986/1/2/Belgia. Masing-masing biakan bakteri di subkultur dalam lempeng agar Mac Conkey selama 24 jam pada 37°C. Koloni yang tumbuh dipilih 4-5 koloni dengan menggunakan ose steril, diinokulasikan pada 2 ml media cair BHI, lalu diinkubasikan pada 37°C selama 2-5 jam sampai pertumbuhan bakteri tampak. Kemudian dibuat suspensi bakteri dengan cara diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis steril sampai kekeruhan sama dengan suspensi larutan standar Brown III yang diidentikkan dengan konsentrasi kuman sebesar 10⁸ CFU/ml. Selanjutnya kuman tersebut diencerkan lagi dengan medium cair BHI sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10⁶ CFU/ml.

d. Penentuan kadarambat minimal infusa umbi temu hitam dengan metode seri pengenceran tabung (*macro broth dilution*).

- Disediakan 270 tabung volume 5 ml steril untuk 9 seri pengenceran dengan 3 kali pengulangan, dan setiap seri pengenceran dalam satu ulangan menggunakan 10 buah tabung.
- Untuk setiap satu seri pengenceran disediakan 10 tabung, ke dalam tabung ke-2 sampai tabung ke-10 dimasukkan 1 ml aquades steril.
- Selanjutnya dimasukkan 1 ml larutan infusa umbi temu hitam ke dalam tabung ke-1 dan ke-2, sehingga tabung ke-1 berisi larutan infusa umbi temu hitam dengan konsentrasi 50 gr% dan tabung ke-2 berisi larutan infusa dengan konsentrasi 25 gram%.
- Kemudian dilakukan pengenceran secara seri dari tabung ke-2 sampai dengan tabung ke-9, dengan cara memindahkan 1 ml larutan infusa pada tabung ke-2 ke dalam tabung ke-3. Tabung ke-3 digojog sampai homogen diambil 1 ml kemudian dipindahkan ke tabung nomor 4. demikian seterusnya sampai tabung ke-9 dipindahkan ke tabung ke-10.
- Ke dalam tabung ke-1 sampai tabung ke-9 selanjutnya diisi masing-masing 1 ml larutan BHI yang berisi suspensi bakteri uji dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml. Volume akhir dari tabung ke-1 sampai tabung ke-9 sebesar 2 ml. Konsentrasi akhir dari infusa umbi temu hitam adalah sebagai berikut: tabung ke-1 25 gr%, ke-2 12,5 gr%, ke-3 6,25 gr%, tabung ke-4 3,125 gr%, tabung ke-5 1,563 gr%, ke-6 0,783 gr%, tabung ke-7 0,391 gr%, ke-8 0,195 gr%, ke-9 0,098 gr%. Tabung ke-10 berisi sisa pengenceran sebagai kontrol sterilitas infusa umbi temu hitam (kontrol negatif).
- Seluruh tabung dari nomor 1 sampai nomor 9 selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37° C, selama 24 jam. Sebagai kontrol sterilitas bahan dan kontrol pertumbuhan kuman, juga ikut diinkubasikan tabung ke-10 dan tabung yang hanya berisi suspensi bakteri uji (kontrol +)
- Ada tidaknya pertumbuhan kuman diamati dengan cara membandingkan kontrol positif.
- Kadar hambatan minimal diperoleh dengan mengamati tabung subkultur yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terendah.
- Tabung-tabung yang tidak memperlihatkan pertumbuhan kuman selanjutnya ditanam pada media nutrisi agar.
- Kemudian diinkubasikan pada 37°C selama 24 jam
- Kadar bunuh minimal akan ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada media nutrisi agar dengan konsentrasi terendah.

HASIL

Hasil rata-rata kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap berbagai kuman penyebab diare dapat dilihat pada Tabel 1.

Konsentrasi infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) yang dibutuhkan untuk menghambat kuman *E.coli* ialah kadar hambat minimalnya paling besar yaitu 22,2gr%. Untuk menghambat kuman *Vibrio cholerae* dibutuhkan kadar hambat minimal paling kecil yaitu 1,91gr%.

Kadar infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) yang dibutuhkan untuk menghambat kuman tergantung juga pada spesies kuman.

Tabel 1. Kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) Infusa umbi temu hitam terhadap berbagai kuman penyebab diare

NO	KELOMPOK	NILAI ($\bar{x} \pm SD$)
1	Kontrol (K)	2,68 \pm 0,46
2	Kontrol Perlakuan (KP)	2,24 \pm 0,42
3	Perlakuan (P)	1,20 \pm 0,40

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa infusa umbi temu hitam dapat menghambat pertumbuhan bakteri, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) mempunyai pengaruh yang paling kuat pada bakteri *Vibrio cholerae*. Hanya dengan kadar infusa umbi temu hitam 1,91gr %, bakteri tersebut dapat dihambat pertumbuhannya. Sebaliknya, infusa umbi temu hitam kurang berpengaruh terhadap bakteri *Escherichia coli*. Untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Esecherichia coli* membutuhkan infusa umbi temu hitam dengan kadar yang lebih besar (22,2%). Pada penentuan kadar bunuh minimal ternyata diperoleh hasil lebih besar dari 25gr% terhadap ketiga bakteri uji. Hal ini membuktikan bahwa infusa umbi temu hitam hanya memiliki daya antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* yang bersifat bakteriostatik.

DISKUSI

Pada penelitian ini bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* dapat dihambat pertumbuhannya oleh infusa umbi temu hitam, tetapi tidak dapat dibunuh .

Umbi temu hitam mengandung zat aktif yang berperan sebagai zat antibakteri. Salah satu kandungan kimia yang terdapat pada umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) adalah minyak atsiri yang diduga mempunyai fungsi sebagai zat antibakteri⁵.

Minyak atsiri yang terkandung di dalam umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) menurut sifat kimianya dibagi menjadi dua macam yaitu monoterpena dan sesquiterpena. Sesquiterpena merupakan jenis minyak atsiri yang bersifat antibakteri⁶.

Di samping minyak atsiri, umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) juga memiliki kandungan zat kimia lain yakni zat pahit yang terdapat dalam simplisia. Zat pahit tersebut pada umumnya mengandung struktur terpenoid antara lain monoterpene, sesquiterpene, diterpene dan triterpene⁷.

Escherichia coli, *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae* adalah kuman yang termasuk golongan bakteri gram negatif. Pada umumnya dinding sel bakteri gram negatif terdiri atas 1-3 lapis peptidoglikan. Pembungkus bakteri gram negatif sangat kompleks. Bila dilihat dari luar ke dalam terdiri atas membran luar, lapisan peptidoglikan, ruang periplasmik dan membran sitoplasma⁸. Pada membran luar terdapat lipopolisakarida yang karakteristik untuk bakteri gram negatif, fosfolipid dan protein membran serta lipoprotein. Lapisan lipid luar lebih banyak mengandung LPS, sedang lapisan dalam lebih banyak mengandung fosfolipid. pada membran luar terdapat ligand untuk logam bervalensi 2 dan protein pembawa untuk mengangkut makanan yang bermolekul besar. Pada membran luar juga terdapat saluran khusus yang sempit dan terdiri atas molekul protein yang disebut porin. Melalui saluran ini nutrien yang merupakan kompleks hidrofilik seperti gula, asam amino dan ion-ion tertentu berdifusi pasif masuk ke sitoplasma untuk dimetabolisme lebih lanjut⁹. Saluran porin sangat sempit, diperkirakan zat berat sampai 700 dalton dapat melaluinya. Kompleks hidrofilik yang lebih besar dari trisakarida dan besi dapat melewati membran luar dengan perantara protein pembawa khusus sehingga sampai di ruang periplasmik, yang mengandung enzim-enzim yang memecah makanan tersebut menjadi molekul yang lebih kecil.

Lapisan lipopolisakarida spesifik O dan lapisan lipid A polisakarida spesifik O disebut juga antigen O, terdiri atas rantai karbohidrat yang panjang. Antigen O melekat pada lapisan lipid A. Lipid A adalah suatu glikolipid yang terdiri atas disakarida, dimana melekat asam lemak rantai pendek dan fosfat. Antara lapisan peptidoglikan dan membran sitoplasma bakteri gram negatif terdapat kompartemen yang disebut ruang periplasmik. Kompartemen ini mengandung larutan seperti fosfatase, nuklease, protease yang berfungsi mendegradasi molekul nutrien yang besar menjadi bentuk lebih kecil.

Bakteri tidak dapat bertahan hidup bila terpapar bahan-bahan yang dapat membunuhnya. Pada bakteri gram negatif terdapat lapisan antigen O yang terdiri dari karbohidrat dan bersifat hidrofilik. Lapisan ini menutupi permukaan bakteri, sehingga dapat menghalau zat yang hidrofobik. Selain itu bakteri gram negatif juga dapat menahan zat yang hidrofilik, sebab pada lapisan luar bakteri gram negatif terdapat lemak yang bersifat hidrofobik. Adanya lipopolisakarida yang hidrofilik, ligand untuk logam, protein pembawa khusus dan porin pada membran luar, membuat permukaan membran luar bakteri bersifat sebagai sawar untuk molekul kecil yang lipofilik¹⁰.

Kadar hambat minimal infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* lebih besar dibanding untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae*. *Escherichia coli* memiliki struktur antigen yang kompleks yakni

antigen O, H dan K. Pada *Vibrio* dan *Shigella* hanya memiliki antigen lipopolisakarida O.

Pengaruh infusa umbi temu hitam terhadap pertumbuhan beberapa kuman penyebab diare berturut-turut dari kuman yang sangat sensitif sampai kuman yang agak resisten yaitu, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli*.

Pengaruh infusa umbi temu hitam terhadap diare ternyata sangat berbeda tergantung bakteri penyebabnya. Jika diare disebabkan oleh *Vibrio cholerae* maka infusa umbi temu hitam mempunyai pengaruh yang kuat terhadap kondisi tersebut. Sebaliknya jika diare disebabkan oleh *Escherichia coli* maka infusa umbi temu hitam mempunyai sedikit pengaruh terhadap kuman tersebut.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) mempunyai daya antibakteri terhadap kuman *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.
2. Infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) mempunyai daya antibakteri yang kuat terhadap kuman *Vibrio cholerae*.
3. Infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) mempunyai daya antibakteri yang lemah terhadap kuman *Escherichia coli*.
4. Daya antibakteri umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* bersifat bakteriostatik.

SARAN

Penderita diare yang mau memanfaatkan infusa umbi temu hitam sebagai daya antibakteri perlu mengetahui kuman penyebab diare tersebut karena infusa umbi temu hitam mempunyai daya antibakteri yang kuat terhadap kuman *Vibrio cholerae* dan yang lemah terhadap kuman *Escherichia coli*.

Ucapan terima kasih.

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Prof.Dr.dr.H.Soesanto Tjokrosonto selaku reviewer, LP3 UMY dan FK UMY yang telah memberi kesempatan untuk melakukan penelitian ini, serta Sdr. Jamhari yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fauziah,M., (1999), *Temu-temuan dan empon-empon*, Edisi I, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
2. Departemen Kesehatan RI, (1985), *Cara Pembuatan Simplisia*, Direktorat Jenderal penelitian Obat dan Makanan, Jakarta.
3. Fransworth,NR., (1986), *Biological Screening of Plants*, Journal Pharmacology Science Phytochemical 55(3): 265-268.
4. Anonim, (1979), *pemanfaatan tanaman Obat*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: 122-123.
5. Tallarida,RJ., Murray,RB., (1981), *manual of Pharmacology Calculatio*, Springer Verlay, New York, Heidelberg, Berlin: 19-22.
6. Tyler,et al., (1977), *Minyak Atsiri*, Edisi I, Indonesia Press, Jakarta: 19-20.
7. Wagner,H., Bladits, Zgainski,EM., (1984), *plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas*, Spronger Verlag, Berlin, Haidelberg, Tokyo: 163-165.
8. Joklik,WK., Willet,HP., Garelick,H., (1992), *Zinsser Microbiology*, 20 edition, Norwalk, Appleton & Lange, San mateo, California: 544- 547.
9. Taussig,MJ., (1986), *Processes in Pathology and miccrobiology*, 2nd ed., Blackwell Scientific publications, Melbourne: 387-404.
10. Jawets,E., Brooks,GF., Melnick,JL., (1996), *Medical Microbiology*, 20 edition, Appleton and Lange Prentice Hall International Inc, USA: 235-238.

LAMPIRAN

1. Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar bunuh minimal (KBM) infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap *Escherichia coli*

No	KHM (gr%)	KBM (gr%)
1	25	>25
2	25	>25
3	25	>25
4	25	>25
5	25	>25
6	12,5	>25
7	25	>25
8	25	>25
9	12,5	>25
Rerata	22,2	>25

Rumus menghitung KHM dan KBM = $\frac{1}{2^n} \times C$

C : konsentrasi awal infusa

n : nomor tabung yang menunjukkan bening pertama dengan konsentrasi terendah.

2. Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar bunuh minimal (KBM) infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap *Vibrio cholerae*

No	KHM (gr%)	KBM (gr%)
1	1,56	>25
2	3,125	>25
3	3,125	>25
4	1,56	>25
5	1,56	>25
6	1,56	>25
7	1,56	>25
8	1,56	>25
9	1,56	>25
Rerata	1,91	>25

Rumus menghitung KHM dan KBM = $\frac{1}{2^n} \times C$

2^n

C : konsentrasi awal infusa

n : nomor tabung yang menunjukkan bening pertama dengan konsentrasi terendah.

3. Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar bunuh minimal (KBM) infusa umbi temu hitam (*Curcuma aeruginosa* terhadap *Shigella dysenteriae*)

No	KHM (gr%)	KBM (gr%)
1	12,5	>25
2	12,5	>25
3	12,5	>25
4	6,25	>25
5	25	>25
6	12,5	>25
7	6,25	>25
8	6,25	>25
9	12,5	>25
Rerata	11,1	>25

Rumus menghitung KHM dan KBM = $\frac{1}{2^n} \times C$

2^n

C : konsentrasi awal infusa

n : nomor tabung yang menunjukkan bening pertama dengan konsentrasi terendah.