

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
KECOMBRANG *Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm
TERHADAP *Salmonella typhi*

Submitted : 23 Maret 2015

Edited : 10 Mei 2015

Accepted : 20 Mei 2015

Eko Kusumawati¹, Risa Supriningrum², & Reza Rozadi²

¹Program Studi Biologi FMIPA Universitas Mulawarman Samarinda

²Akademi Farmasi Samarinda

E-mail : ike_dara@yahoo.co.id

ABSTRACT

Research Test Antibacterial Activity of Ethanol Extracts of Leaves kecombrang against Salmonella typhi aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of leaves kecombrang against Salmonella typhi. The extract used is kecombrang leaf extract prepared by maceration using ethanol 95%, extracts obtained test chemical classes of compounds to determine the content of the active compound. Antibacterial activity test conducted at five concentrations of the extract is 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. Inhibition zone measurement results are then analyzed using One Way ANOVA with SPSS 20 to determine whether there is a difference at each concentration. The results showed kecombrang leaf ethanol extract 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% produce inhibition zone diameter 3.9 mm; 6.5 mm; 6.75 mm; 7.45 mm; and 9.28 mm, 0 mm for the negative control and positive control 32.61 mm. The test results show the class of secondary metabolites kecombrang leaf ethanol extract contains tannin, saponin, and flavonoids. Of statistical tests concluded there were significant differences of treatment results in inhibition of the respective concentrations of ethanol extracts of leaves kecombrang

Keywords : kecombrang (*Etlingera elatior*), identification secondary metabolites, antibacterial

PENDAHULUAN

Kecombrang merupakan salah satu jenis rempah-rempah yang sejak lama dikenal dan dimanfaatkan oleh manusia sebagai obat-obatan berkaitan dengan khasiatnya, yaitu sebagai penghilang bau badan dan bau mulut¹. Bagian yang biasa digunakan dari tanaman ini adalah bunga, daun dan batangnya. Beberapa penelitian menunjukkan bunga dan daun kecombrang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif². Ningtyas³ melakukan penelitian tentang uji antioksidan dan antibakteri ekstrak air daun kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai pengawet alami terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Dari hasil penelitiannya ekstrak air daun kecombrang memiliki beberapa senyawa yang di asumsikan memiliki keterkaitan dengan kemampuan antibakteri dari ekstrak tersebut, yaitu golongan fenolik, golongan alkohol, golongan monoterpen dan aromatik. Konsentrasi yang digunakan yaitu, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Setelah dilakukan penelitian, diketahui bahwa ekstrak air daun kecombrang dapat

menghambat bakteri *E. coli* pada konsentrasi 100% dan *S. aureus* pada konsentrasi 20%.

Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri⁴. Menurut David Stout, berdasarkan cara kerjanya antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik dan bakteriosida. Antibakteri bakteriostatik bekerja menghambat perbanyakan populasi bakteri dan tidak mematikan, sedangkan bakteriosida bekerja membunuh bakteri. Bakteriostatik dapat bertindak sebagai bakteriosida dalam konsentrasi tinggi. Kadar minimal yang dibutuhkan untuk menghambat bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Tumbuh Minimal (KHTM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien dengan melibatkan hasil metabolisme sekunder dari mikroorganisme. Dilakukan dengan berbagai cara. Salah satunya adalah metode *disc diffusion* (tes

Kirby & Bauer). Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen mikroba. Piringan yang berisi agen anti mikroba diletakkan di media Agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar.

Berdasarkan uraian di atas, dalam rangka pengembangan obat tradisional yang memiliki aktivitas antibakteri, maka peneliti tertarik

melakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun kecombrang (*Etlingera elation*) dengan menggunakan bakteri uji *Salmonella typhi* dengan menggunakan etanol 95% sebagai larutan penyari. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, netral, absorbsinya baik, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit⁵.

METODE PENELITIAN

Objek Penelitian

Objek penelitian adalah daun kecombrang yang akan dibuat dalam bentuk ekstrak dengan konsentrasi 20 %, 40 %, 60 %, 80 % dan 100% selanjutnya diujikan terhadap bakteri *Salmonella typhi* menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Sampel dan Teknik Sampling

Daun kecombrang diperoleh dari daerah Samarinda Kelurahan Air Putih. Daun kecombrang dipanen langsung dari pohon, yang tumbuh di kelurahan Air Putih Samarinda. Panen dilakukan pada pagi hari. Daun yang digunakan adalah daun tua dan dipetik dari beberapa pohon.

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol simplisia daun kecombrang

Daun kecombrang dicuci bersih, ditiriskan, selanjutnya dikeringkan dengan cara di angin-anginkan selama 1 minggu. Setelah itu dirajang dan dibuat serbuk dengan cara diblender kemudian diayak dengan menggunakan ayakan mesh 40. Pembuatan ekstrak etanol serbuk simplisia daun kecombrang dilakukan secara remaserasi dengan cara menimbang simplisia serbuk daun kecombrang sebanyak 200 g. Selanjutnya dimasukkan sampel ke dalam toples kaca, ditambahkan 1 L etanol 95% kemudian diaduk selama 6 jam pertama lalu didiamkan selama 24 jam. Disaring ekstrak yang diperoleh menggunakan kertas saring. Ampas dimaserasi kembali dengan 1 L etanol 95%, kemudian diaduk selama 6 jam pertama, lalu didiamkan kembali selama 24 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring dengan kertas saring. Kemudian ekstrak yang didapat dipekatan dengan cara diuapkan. Ekstrak yang telah dikentalkan dimasukkan ke dalam wadah dan ditimbang.

Uji golongan senyawa kimia

Identifikasi golongan senyawa kimia dilakukan pada ekstrak dengan prosedur sebagai berikut:

1. Uji alkaloid

10 mg ekstrak daun kecombrang dimasukkan ke dalam tabung ditambahkan 1 ml HCl 2 N lalu ditambahkan air suling 9 ml. Dipanaskan selama 2 menit setelah dipanaskan kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga didapat ekstrak daun kecombrang. Diambil 3 tetes dari filtrate yang diperoleh lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Meyer menghasilkan endapan putih/kuning. Selanjutnya, diambil 3 tetes filtrate yang diperoleh, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat menghasilkan endapan coklat-hitam. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendrof menghasilkan endapan merah bata. Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau paling sedikit 2 atau 3 dari percobaan di atas⁶.

2. Uji tanin

10 mg ekstrak daun kecombrang dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 sampai 2 tetes larutan $Fe(Cl)_3$ 1%. Bila terbentuk warna biru tua dan hijau kehitaman, menunjukkan adanya tanin atau sepuluh tetes ekstrak daun kecombrang dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 sampai 2 tetes larutan gelatin. Bila timbul endapan menunjukkan adanya tanin.

3. Uji Flavonoid

10 mg ekstrak daun kecombrang dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 5 tetes HCl pekat, sedikit serbuk Mg dan 5 tetes amil alkohol kemudian dikocok. Bila terbentuk warna merah, jingga, atau kuning menunjukkan adanya flavonoid.

4. Uji Saponin

10 mg ekstrak daun kecombrang dimasukkan kedalam tabung ditambahkan 5 ml air panas dan dikocok selama 15 menit, lalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes HCl 2 N. Jika terbentuk busa permanen menunjukkan adanya saponin⁶.

Uji aktivitas antibakteri

Disiapkan 7 cawan petri yang sudah disterilkan, setelah itu dituang media MHA sebanyak 20 ml ke dalam cawan kemudian didiamkan hingga memadat. Lalu diusapkan suspensi *Salmonella typhi* menggunakan cotton swap kepermukaan media hingga merata. Setelah itu diambil kertas cakram menggunakan pinset steril, dimasukkan kedalam ekstrak etanol daun kecombrang konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% yang sebelumnya telah dilarutkan dengan larutan DMSO 1%, kemudian diletakkan dipermukaan media dan masing-masing

konsentrasi dibuat 3 kali pengulangan pada setiap cawan. Dilakukan hal yang sama pada perlakuan kontrol positif menggunakan larutan kloramfenikol 0,1% dan kontrol negatif menggunakan larutan DMSO 1%. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Diamati dan diukur zona hambat yang terbentuk.

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh dianalisis dengan uji Statistic menggunakan SPSS IBM 20. Apabila data yang diperoleh berdistribusi normal, maka digunakan One Way ANOVA dan apabila data tidak berdistribusi normal maka menggunakan Kruskal-Wallis signifikansi (= 5%). Metode analisis yang digunakan adalah deskriptif, yaitu data berupa zona hambat (mm) dan golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun kecombrang (*Elingera elatior* (Jack) R.M.Sm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Kecombrang

Sebanyak 200 g serbuk simplisia disari menggunakan etanol 95%. Ekstraksi dilakukan dengan metode remaserasi, dengan tujuan untuk mendapatkan zat aktif yang lebih banyak dari proses ekstraksi tersebut. Metode maserasi atau remaserasi dipilih, karena metode ini cara pengerjaannya sederhana dan mudah. Selain itu faktor kerusakan zat aktif lebih kecil karena pada metode ini tidak menggunakan panas yang mungkin dapat

merusak zat aktif yang ditarik. Etanol 95% dipilih karena tidak toksik dan senyawa flavonoid, saponin dan tanin dapat larut dalam pelarut yang polar sehingga senyawa aktif yang dapat memberikan aktivitas antibakteri dapat ditarik. Etanol tidak bersifat racun, tidak eksplosif bila bercampur dengan udara, tidak korosif dan mudah diperoleh⁷.

Uji Golongan Senyawa Kimia

Berdasarkan uji golongan senyawa kimia, diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji golongan senyawa kimia

| Uji | Pereaksi | Hasil | Pustaka | Keterangan |
|-----------|--------------------------------|-------------------|-------------------------------|------------|
| Alkaloid | Meyer | tidak ada endapan | Endapan Putih | - |
| | Bouchardat | Endapan coklat | Endapan Coklat-Hitam | + |
| Tanin | Dragendorf | tidak ada endapan | Endapan Merah Bata | - |
| | FeCl ₃ 1% | Hijau Kehitaman | Biru Tua atau Hijau Kehitaman | + |
| Flavonoid | HCl Pekat + Mg, + Amil Alkohol | Kuning | Merah, Kuning, Jingga | + |
| Saponin | HCl 2N | Berbuih | Buih tidak hilang | + |

Dari tabel di atas, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun kecombrang yang diperoleh peneliti mengandung tanin, flavonoid dan saponin. Berdasarkan literature untuk uji alkaloid, alkaloida dianggap positif

jika terjadi endapan atau paling sedikit 2 atau 3 dari percobaan diatas. Dalam pengujiannya yang lakukan, hanya 1 pereaksi saja yang positif, ini dapat dikatakan ekstrak daun kecombrang yang pratikkan miliki tidak

mengandung alkaloid. Pada Uji flavonoid, dalam literatur disebutkan bahwa flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning, dan jingga. Berdasarkan pengujian yang dilakukan di dapatkan warna kuning jingga dan dapat disimpulkan bahwa ekstrak positif mengandung flavonoid. Untuk uji tanin yang dilakukan didapatkan hasil yang positif atau mengandung tanin, ini ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Berdasarkan literatur, jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan. Tanin terkondensasi hampir terdapat semesta di dalam paku-pakuan dan gimnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Sebaliknya, tanin yang terhidrolisiskan penyebarannya terbatas kepada tumbuhan berkeping dua⁸.

Jenis tanin yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun kecombrang adalah tanin-terkondensasi, karena jenis tumbuhan yang digunakan yaitu tumbuhan kecombrang bersub-divisi angiospermae. Kandungan senyawa kimia saponin juga terdapat dalam ekstrak etanol daun kecombrang, ini ditandai dengan terbentuknya buih selama kurang dari 10 menit dan tidak hilang pada penambahan asam klorida 2N. Dalam literatur disebutkan bahwa apabila buih tidak hilang pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N menunjukkan adanya saponin.

Uji Aktivitas Antibakteri

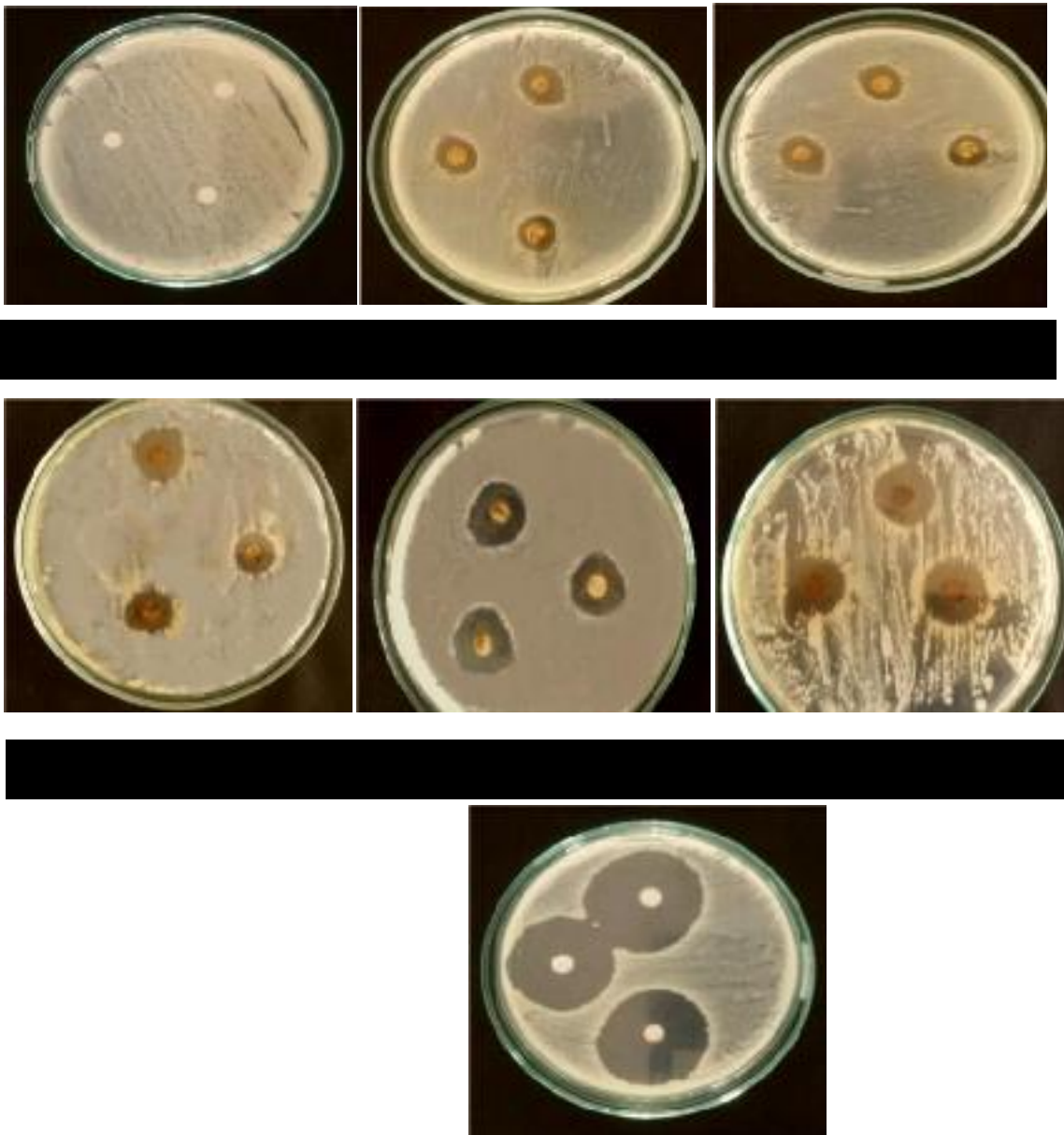
Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kecombrang terhadap *Salmonella typhi* dilakukan dengan metode *disc diffusion* menggunakan media MHA (*Mueller Hinton*

Agar). Aktivitas antibakteri tampak dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang diukur menggunakan jangka sorong. Pada penelitian ini digunakan media *Mueller Hinton Agar*, karena media ini telah direkomendasikan oleh FDA dan WHO untuk tes antibakteri terutama bakteri aerob dan facultative anaerobic bacteria untuk makanan dan materi klinis. Media agar ini juga telah terbukti memberikan hasil yang baik dan reproduksibel. Dalam penelitian ini peneliti menggunakan metode *disc diffusion* atau kertas cakram dikarenakan bakteri yang ditanam pada media dalam metode ini bersifat aerob yaitu tumbuhnya bakteri memerlukan oksigen sehingga bakteri tersebut tumbuh di permukaan media. Metode *disc diffusion* dilakukan dengan menggunakan piringan atau kertas cakram (Wathman nomor 4) yang berisi agen anti mikroba, diletakkan di media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar⁹.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol. Kloramfenikol dipilih karena berspektrum luas yaitu efektif untuk bakteri gram positif dan gram negatif serta mikroorganisme lain¹⁰. Mekanismenya dengan menghambat sintesis protein, mencegah ujung aminoasil t-RNA bergabung dengan peptidil tranferase (enzim yang menghubungkan asam amino dengan rantai peptide selama proses sintesis protein)¹¹. Pada pengujian antibakteri ini diperoleh hasil yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun kecombrang terhadap *Salmonella typhi*.

| Konsentrasi | Zona Hambat (mm) | | | Rata-rata (mm) |
|------------------------|------------------|------|-------|----------------|
| | I | II | III | |
| Kontrol Negatif | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20% | 5.65 | 3.35 | 2.7 | 3.90 |
| 40% | 7.1 | 6.75 | 5.65 | 6.50 |
| 60% | 8.2 | 6.3 | 5.8 | 6.76 |
| 80% | 8.85 | 7.85 | 7.3 | 7.45 |
| 100% | 12.15 | 9 | 6.7 | 9.28 |
| Kontrol Positif | 32 | 33,8 | 32,05 | 32.61 |



Gambar 1. Aktivitas antibakteri daun kecombrang terhadap bakteri *Salmonella typhi*

- Keterangan :
- a = kontrol negatif
 - b = perlakuan dengan konsentrasi 20%
 - c = perlakuan dengan konsentrasi 40%
 - d = perlakuan dengan konsentrasi 60%
 - e = perlakuan dengan konsentrasi 80%
 - f = perlakuan dengan konsentrasi 100%
 - g = kontrol positif = kloramfenikol

Berdasarkan dari data yang telah tersaji pada Tabel 2 dan Gambar 1 di atas untuk rata-rata diameter zona hambat terbesar terletak pada konsentrasi 100%. Penentuan konsentrasi ekstrak etanol daun kecombrang

sangat berpengaruh terhadap terbentuknya zona hambat yang dihasilkan. Menurut Ningtyas³ bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi daya hambatnya, hal ini dikarenakan semakin

tinggi konsentrasi semakin banyak kandungan bahan aktif antibakterinya. Jenie dan Kuswanto¹² menyatakan bahwa keefektifan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan tergantung pada sifat mikroba uji, konsentrasi dan lamanya waktu kontak, dan sifat biostatistik dapat meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi yang ditambahkan.

Menurut tabel David Stout, daya hambat antibakteri ekstrak etanol daun kecombrang pada konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat sebesar 9.28 mm yang masuk dalam kategori antibakteri kerja sedang. Daya antimikroba ekstrak daun kecombrang ini disebabkan oleh karena adanya bahan-bahan aktif yang terkandung di dalamnya yang berperan utama dalam menghambat pertumbuhan maupun membunuh bakteri *Salmonella typhi*. Bahan aktif tersebut diantaranya adalah saponin, flavonoid dan tanin.

Saponin adalah senyawa penurun tegangan permukaan yang kuat yang menimbulkan busa bila dikocok dalam air. Sifat saponin menyerupai sabun (bahasa latin *sapo* berarti sabun). Saponin bekerja sebagai antimikroba dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakterilisis. Flavonoid berefek antimikroba melalui kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein

ekstraseluler dan protein yang dapat larut serta dengan dinding sel bakteri¹³. Senyawa tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang tergolong senyawa fenol terkondensasi dan banyak terdapat pada tumbuhan Angiospermae. Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan kuman maupun pada konsentrasi tinggi dapat bersifat membunuh bakteri. Senyawa fenolik bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma kuman sehingga terbentuk ikatan yang stabil dengan protein kuman dan pada saluran pencernaan, tanin diketahui mampu mengeliminasi toksin¹⁴.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS IBM 20. Terlebih dahulu data dianalisis untuk mengetahui apakah berdistribusi normal. Pada uji One-Sampel Kolmogorov-Smirnov test menunjukkan bahwa nilai D (Absolute) lebih besar dari 0,05 atau signifikansi lebih besar dari 0,05, ini menunjukkan bahwa data yang diperoleh peneliti berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan uji One Way ANOVA. Berdasarkan Uji One Way ANOVA menunjukkan bahwa uji tersebut memiliki signifikansi kurang dari 0,05 dengan keputusan yang berarti terdapat perbedaan bermakna dari hasil perlakuan pada daya hambat masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun Kecombrang.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kecombrang terhadap bakteri *Salmonella typhi* diperoleh

kesimpulan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak etanol kecombrang, semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hidayat dan Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Balai Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan RI.
2. Hudaya, Adeng. 2010. *Uji Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang (Etilingera elatior) Sebagai Pangan Fungsional Terhadap Staphylococcus aureus dan Eschericia coli*. Skripsi. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
3. Ningtyas, Rina. 2010. *Uji Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Air Daun Kecombrang (Etilingera elatior) (Jack) R.M. Smith*. Skripsi. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
4. Lathifah, Qurrotua'yunin. 2008. *Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Dengan Variasi Pelarut*. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
5. Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
6. Departemen Kesehatan RI. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

7. Handoko, T. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi Empat. Jakarta: Gaya Baru.
8. Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
9. Pratiwi., S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
10. Mycek, MJ. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi I*. Jakarta. Widya Medika.
11. Olson. J. 2004. *Belajar Mudah Farmakologi*. Cetakan 1. EGC. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
12. Jenie, B.S.L. dan Kuswanto. 1994. *Aktivitas antimicroba dari pigmen angkak yang diproduksi oleh Monasnrs purpuracs terhadap beberapa milcroba patogen dan perusak makanan*. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Permi.
13. Ardananurdin, Alhamfaib. 2004. *Uji Efektivitas Dkok Bunga Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi) Sebagai Anttimikroba Terhadap Bakteri Salmonella Typhi Secara in vitro*. Jurnal kedokteran. FK Unibraw.
14. Hapsari, Lukyta Setyo. 2013. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Rumput Belulang (Eluesine indica Gaerin)*. Samarinda.: Akademi Farmasi Samarinda.