

Aktivitas Antimikroba Ekstrak Dietil Eter Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Vahl.) Terhadap Bakteri Patogen Secara Klt-Bioautografi

Zaraswati Dwyana¹, Rusli², Mahdalena Sy. Pakaya²

¹ Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar

² Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Email: zaraswatidwyana@gmail.com

Abstract

*Antimicrobial Activity of Dietil Eter extract of Lempuyang Wangi Rimpang (*Zingiber aromaticum* Vahl.) to pathogen bacterial through TLC-Bioautography. Research has done by screening test using *Streptococcus mutans*, *Vibrio* sp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* by methanol extract, diethyl ether extract and n-buthanol extract which were use 1 mg/ml. Result which obtained exhibit diethyl ether extract inhibit the growth of *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Vibrio* sp. Antimicrobial potential assay of diethyl ether extract of *Zingiber aromaticum* Vahl. has done by liquid dilution method to get the MIC value in concentration of 0,05 %, 0,1 %, 0,2 %, 0,4%, and 0,8 % which continued by smearing on solidified medium to get the MLC value. The result shown that MKC could not be determined due to turbidity of the test solution mean while the MLC of the extract as much as 0,2 % on *Bacillus subtilis* and *Salmonella typhi* and 0,4 % on *Staphylococcus epidermidis* and *Vibrio* sp. TLC-bioautography test has done to get the compound which had antimicrobial activity. The best result was obtained from separation through TLC-bioautography by means of eluent n-hexan : ethyl acetate (8 : 2). TLC-bioautography test result shown that the spot in Rf 0,07 has antimicrobial activity on *Staphylococcus epidermidis*, Rf 0,2 has antimicrobial activity on *Vibrio* sp., Rf 0,07, 0,45, 0,56 and 0,69 has antimicrobial activity on *Bacillus subtilis*, and Rf 0,2 has antimicrobial activity on *Salmonella typhi*. Identification result of the chemical component shown that the active compound which given positif result on spot viewer were in Rf 0,07; 0,2; 0,45; 0,56; and 0,69.*

Kata kunci: Antimicrobial Activity, TLC-bioautography, Zingiber aromaticum Vahl

PENDAHULUAN

Tanaman obat diketahui potensial untuk dikembangkan lebih lanjut pada pengobatan penyakit infeksi, hanya saja masih banyak yang belum dibuktikan aktivitasnya secara alamiah. Salah satu bahan alam yang digunakan secara empirik sebagai obat tradisional adalah rimpang lempuyang wangi (*Zingiber*

aromaticum Vahl.). Rimpang lempuyang dikenal sebagai bahan jamu atau obat tradisional. Rimpang lempuyang digunakan sebagai penambah nafsu makan, obat diare, malaria, radang lambung, rematik, sesak nafas, pilek, karminatif, obat cacing dan penambah darah (Nugroho, 2002). Tujuan penelitian untuk mengetahui aktivitas antimikroba rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Vahl.) terhadap pertumbuhan beberapa bakteri patogen secara KLT–Bioautografi.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Sampel

Sampel rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Vahl.) yang digunakan diambil dari Kabupaten Bone Sulawesi Selatan. Rimpang tersebut dibersihkan dari tanah atau kotoran yang melekat. dicuci bersih dengan air dan dipotong-potong kecil dan diangin-anginkan tanpa sinar matahari langsung. Rimpang yang sudah kering dihaluskan.

Ekstraksi dan Partisi Sampel

Sampel yang telah diolah ditimbang sebanyak 500 gram kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi lalu ditambahkan dengan metanol hingga seluruh simplisia terendam, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari dan diaduk sesering mungkin, kemudian disaring ke dalam wadah penampung. pengerjaan ini diulangi sebanyak 3 kali dan ekstrak cair yang diperoleh, dikumpulkan kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak metanol kental yang telah didapat kemudian dipartisi padat cair dengan dietil eter sebanyak 50 ml selama 20 menit dengan menggunakan stirer, kemudian disaring ke dalam wadah penampung. Pengerjaan ini diulangi sampai cairan dietil eter jernih dan ekstrak cair yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kering, residunya dilanjutkan partisi padat cair dengan n-butanol sebanyak 50 ml lalu distirer, kemudian disaring dan diuapkan hingga kering.

Penyiapan Mikroba Uji

Bakteri dan jamur diambil dari biakan murni, masing-masing diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium Glukosa Nutrien Agar (GNA) miring, selanjutnya biakan bakteri diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada suhu 37⁰ C sedangkan biakan jamur diinkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu kamar. Setelah bakteri atau jamur tumbuh disimpan pada suhu 4⁰ C sebagai stok mikroba uji.

Mikroba hasil peremajaan, masing-masing disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9% steril kemudian diukur transmitannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada 25% T untuk bakteri dan 75% T untuk jamur, sebagai blanko digunakan larutan NaCl 0,9% steril.

Uji Skrining Antimikroba

Ekstrak metanol ditimbang 10 mg lalu dilarutkan dengan DMSO sebanyak 0,2 ml. Setelah larut, ekstrak ditambahkan medium GNA 9,8 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/ml. Campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri lalu dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Untuk kontrol positif bakteri digunakan kloramfenikol dan untuk jamur digunakan ketokonazol. Sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO. Semua mikroba yang telah disuspensikan, masing-masing diambil 5 µl dan diratakan di atas medium yang memadat. Lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37⁰ C untuk bakteri dan 3 24 jam pada suhu kamar untuk jamur. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada ekstrak

dietil eter dan ekstrak n-butanol. Kemudian diamati ekstrak yang memberikan aktivitas penghambatan terhadap mikroba uji, yang ditandai dengan tidak adanya atau sedikitnya pertumbuhan mikroba.

Uji Aktivitas Antimikroba

Uji Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Hasil inkubasi pada uji KHM kemudian digoreskan pada medium GNA, lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam untuk bakteri dan pada suhu kamar selama 72 jam untuk jamur. Nilai KBM ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan mikroba pada konsentrasi terendah sampel.

Pemisahan Senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak dietil eter dilarutkan dengan campuran pelarut kloroform : metanol (1 : 1) kemudian dipisahkan secara KLT dengan menggunakan campuran eluen n-heksan : etil asetat (8 : 2). Kemudian kromatogram yang dihasilkan diamati bercaknya di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm serta penampak bercak H₂SO₄ 10%.

Pengujian secara KLT-Bioautografi

Medium GNA steril sebanyak 10 µl dituang ke dalam cawan petri steril yang sebelumnya telah dimasukkan 40 ml suspensi bakteri *Salmonella typhi* sebanyak 5 µl lalu dihomogenkan. Kromatogram hasil pemisahan senyawa secara KLT kemudian diletakkan di atas permukaan medium yang memadat. Setelah 60 menit, lempeng (kromatogram) diangkat dan dikeluarkan. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Diamati daerah hambatan yang terbentuk. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Vibrio sp.*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan uji skrining pada masing-masing ekstrak rimpang lempuyang wangi (metanol, dietil eter, dan n-butanol) terhadap beberapa mikroba uji, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Vibrio sp.*, dan *Candida albicans* maka dapat diperoleh hasil bahwa ekstrak dietil eter menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap mikroba *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Vibrio sp.*

Dari hasil pengujian diperoleh nilai KBM untuk *Bacillus subtilis* dan *Salmonella typhi* sebesar 0,2 %, untuk *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio sp.* sebesar 0,4 %. Pengujian selanjutnya dengan analisis KLT-Bioautografi, karena metode ini diharapkan dapat melokalisasi bercak yang aktif terhadap mikroba tertentu. Sebelum uji ini dilakukan terlebih dahulu pengelusan ekstrak dietil eter terhadap beberapa variasi eluen untuk mendapat sistem profil KLT yang terbaik. Sistem KLT yang dipilih adalah yang dapat memisahkan komponen kimia yang ditunjukkan dengan pemisahan bercak yang baik terutama bercak dari senyawa yang aktif sebagai antimikroba. Dari hasil uji pendahuluan diperoleh sistem KLT yang dipergunakan adalah n-heksan : etil asetat (8 : 2). Metode bioautografi yang dipilih adalah metode bioautografi kontak, karena dapat dengan cepat mendeteksi bercak aktif pada kromatogram selain itu pengerjaannya lebih sederhana.

Tabel 1. Hasil pengujian skrining aktivitas antimikroba rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Vahl.) pada konsentrasi 1mg/ml.

No.	Sampel	Mikroba Uji								
		SA	SE	SM	BS	PA	ST	EC	VC	CA
1.	Ekstrak Metanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	Ekstrak Dietil Eter	-	+	-	+	-	+	-	+	-
3.	Ekstrak n-Butanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.	K + (Antibakteri)	+	+	+	+	+	+	+	+	#
5.	K + (Antijamur)	#	#	#	#	#	#	#	#	+
6.	K -	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

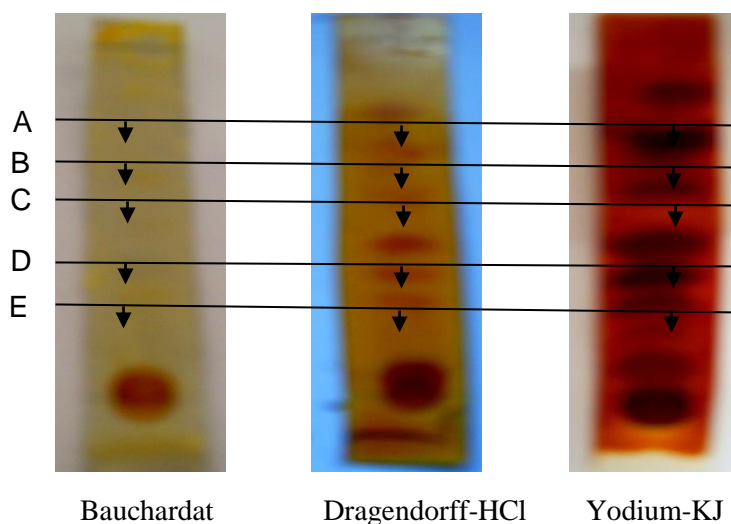
SA = *Staphylococcus aureus* BS = *Bacillus subtilis*
 SE = *Staphylococcus epidermidis* EC = *Escherichia coli*
 SM = *Streptococcus mutans* VC = *Vibrio sp.*
 ST = *Salmonella typhi* CA = *Candida albicans*
 PA = *Pseudomonas aeruginosa*
 K⁺ (antibakteri) = kontrol positif antibakteri (kloramfenikol)
 K⁺ (antijamur) = kontrol positif antijamur (ketokonazol)
 K⁻ = kontrol negatif (DMSO)
 + = menghambat pertumbuhan mikroba
 - = tidak menghambat pertumbuhan mikroba
 # = tidak dilakukan pengujian

Dari hasil uji dengan metode KLT–Bioautografi pada lempeng KLT dengan silika gel G60 F254 dengan fase gerak n–heksan : etil asetat (8 : 2) dari hasil pengelusan diperoleh beberapa bercak dengan nilai Rf 0,07 memberikan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus epidermidis* , nilai Rf 0,2 memberikan aktivitas antimikroba terhadap *Vibrio sp.* nilai Rf 0,07; 0,45; 0,56; dan 0,69 memberikan aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*, dan nilai Rf 0,45 juga memberikan aktivitas antimikroba terhadap *Salmonella typhi*.

Tabel 2. Hasil Pengujian Identifikasi Komponen Kimia Aktif

Nilai Rf	Bauchardat	Yodium-JK	Dragendorff-HCl	Keterangan
0,69	Jingga	Jingga	Coklat	Positif golongan alkaloid
0,56	Jingga	Jingga	Coklat	
0,45	Jingga	Jingga	Coklat	
0,2	Jingga	Jingga	Coklat	
0,07	Jingga	Jingga	Coklat	

Bercak aktif yang diperoleh diidentifikasi dengan beberapa pereaksi penampak bercak untuk golongan senyawa tertentu, di mana bercak aktif antimikroba dengan nilai Rf 0,69; 0,56; 0,45; 0,2; dan 0,07 memberikan hasil positif terhadap penampak bercak golongan senyawa alkaloid, yaitu Bauchardat, Dragendorff-HCl, Yodium-KJ, dengan penampak bercak berwarna jingga dan coklat.



Gambar 1. Foto Hasil Identifikasi Komponen Kimia Dari Kromatogram Ekstrak Dietil Eter Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Vahl.) (A. Rf 0,69 B. Rf 0,56 C. Rf 0,45 D. Rf 0,2 E. Rf 0,07).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak dietil eter rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Vahl.) memberikan aktivitas antimikroba pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio sp*, *Bacillus subtilis*, dan *Salmonella typhi* dan memberikan hasil positif terhadap penampak bercak senyawa golongan alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., Schwarting, A.E., 1991, *Pengantar Kromatografi*, Edisi ke-2, Penerbit ITB, Bandung.
- Mariyah, Y., 2005, *Uji Daya Anti Udema Minyak Atsiri Rimpang Lempuyang Wangi (Zingiber aromaticum Vahl.) Pada Mencit*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Sastrohamidjojo, H., 1989, *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta.
- Syamsuhidayat, S.S., Hutapea, J.R., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Yusuf, Y., 1997, *Uji Efek Anti Diare Ekstrak Metanol Rimpang Lempuyang Wangi (Zingiber aromaticum Vahl.) Pada Mencit*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar.