

Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform, Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber casumounar* Roxb.) terhadap *Staphylococcus aureus*

(Antibacterial Activity Test of n-Hexane Fraction, Chloroform, Ethyl Acetate of Bangle Rhizome (*Zingiber casumounar* Roxb.) against *Staphylococcus aureus*)

HAMDAYANI LANCE ABIDIN^{1*}, LAODE ZUBAERDHO¹, HERLINA RANTE²

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Jl. Perintis Kemerdekaan KM 13,7 Makassar, Sulawesi Selatan, 90241, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan, 90245, Indonesia

Diterima 12 November 2021, Disetujui 21 April 2022

Abstrak: *Zingiber casumounar* Roxb. sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk pengobatan reumatik dan peradangan pada tenggorokan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat dari rimpang bangle terhadap *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat dari rimpang *Z. casumounar* Roxb. terhadap *S. aureus* dengan metode difusi. Fraksi diperoleh dari hasil partisi cair cair ekstrak etanol 96% *Z. casumounar* Roxb. menggunakan n-heksan, kloroform dan etil asetat. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ketiga fraksi menunjukkan adanya kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Aktivitas antibakteri menunjukkan zona hambat yang berbeda yaitu dengan nilai rata-rata pada ekstrak kasar 8,59±0,4 mm, sedangkan ekstrak fraksi n-heksan 11,67±1,0 mm, fraksi kloroform 11,39±0,6 mm dan fraksi etil asetat 13,21±0,3 mm. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dengan melihat luas zona hambatnya.

Kata kunci: Antibakteri, fraksi etil asetat, *Staphylococcus aureus*, *Zingiber casumounar* Roxb

Abstract: The *Zingiber casumounar* Roxb. It is often used by the public as a traditional medicine for the treatment of rheumatism and throat inflammation. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the n-hexane fraction, chloroform, and ethyl acetate of the bangle rhizome against *Staphylococcus aureus*. In this study, antibacterial activity testing of the n-hexane fraction, chloroform, and ethyl acetate of the rhizome of *Z. casumounar* Roxb was performed. against *S. aureus* by using the diffusion method. Fractions obtained from the liquid partition results of the ethanol extract 96% of *Z. casumounar* Roxb. using n-hexane, chloroform, and ethyl acetate. The test results of antibacterial activity of all three fractions indicated the ability to inhibit the growth of *S. aureus*. Antibacterial activity shows different inhibition zones, namely with an average value in crude extracts of 8.59±0.4 mm, while extracts of n-hexane fractions of 11.67±1.0 mm, chloroform fractions of 11.39±0.6 mm and ethyl acetate fractions of 13.21±0.3 mm. The ethyl acetate fraction had the highest antibacterial activity based on the area of its inhibitory zone.

Keywords: Antibacterial, ethyl acetate fraction, *Staphylococcus aureus*, *Zingiber casumounar* Roxb

*Penulis korespondensi
e-mail: hamdayani.lance@gmail.com

PENDAHULUAN

SEIRING perkembangan zaman terutama yang berhubungan dengan penggunaan tanaman sebagai pengobatan tradisional, jauh sebelumnya para leluhur telah banyak memanfaatkan bagian tanaman sebagai salah satu cara pengobatan beberapa penyakit⁽¹⁾.

Penyakit infeksi di Indonesia sangatlah beragam jenisnya. Berdasarkan pola dan siklus hidup mikroorganisme yang menjadi peluang dalam pengembangan inovasi bioteknologi pada bidang kesehatan sehingga dapat bersaing dengan negara maju⁽²⁾.

Center for Disease Control and Prevention (CDC) tahun 2020, menginformasikan bahwa 7 dari 10 penyakit yang menjadi penyebab kematian adalah penyakit infeksi⁽³⁾. Salah satu bakteri gram positif adalah *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit klinis. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen umumnya bersumber dari masyarakat atau rumah sakit. Bakteri ini umumnya tidak menyebabkan infeksi pada kulit yang sehat namun tetap perlu diwaspadai⁽⁴⁾.

Rimpang bangle merupakan salah satu tanaman khas di Indonesia yang mengandung zat antibakteri dan antioksidan. Aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus sobrinus* yaitu 16,18 mm dan 9,86 mm sedangkan aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC_{50} 0,993 μ g/mL. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak akar rimpang bangle mengandung senyawa fitokimia seperti fenolik, alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan triterpenoid⁽⁷⁾.

Rimpang bangle merupakan salah satu tanaman khas di Indonesia yang mengandung zat antibakteri dan antioksidan. Aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus sobrinus* yaitu 16,18 mm dan 9,86 mm sedangkan aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC_{50} 0,993 μ g/mL. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak akar rimpang bangle mengandung senyawa fitokimia seperti fenolik, alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan triterpenoid⁽⁵⁾.

Ekstrak rimpang dengan konsentrasi 100% memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif⁽⁶⁾. Skrining fitokimia ekstrak rimpang bangle diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon dan steroid. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antiulkus menggunakan tikus yang diinduksi aspirin⁽⁷⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. $AlCl_3$ (Merck®, German), akuades (Onemed®, Indonesia), *dimethyl sulfoxide* (DMSO) (Merck®, German), etanol 96% (Karsavicta®,

Indonesia), etil asetat (Merck®, German), HCl kloroform (Merck®, German), n-heksan (Merck®, German), media *nutrient agar* (Merck®, German), pereaksi Dragendorf, rimpang bangle, vanilin asam klorida, vanilin asam sulfat.

Alat. Alat-alat gelas (Iwaki Pyrex®, Jepang), autoklaf (GEA®, Indonesia), cawan porselin, cawan petri, chamber, Erlenmeyer (Iwaki Pyrex®, Jepang), inkubator (Memmert®, German), jangka sorong, magnetic stirrer, swab steril, lemari pendingin (Midea®, Cina), oven laboratorium, plat tetes, pipa kapiler, rotavapor, timbangan analitik.

METODE. Penyiapan Simplisia *Z. casumounar* Roxb. Proses pembuatan simplisia dengan cara sortasi basah yakni pembersihan dari benda-benda asing, pencucian dibawah air mengalir, lalu dilakukan proses perajangan dimana ukuran partikel diperkecil untuk mempercepat proses pengeringan. Setelah dirajang maka sampel dikeringkan dengan cara dikering-anginkan. Setelah menjadi simplisia maka sampel siap untuk diekstraksi.

Ekstraksi *Z. casumounar* Roxb. Rimpang bangle diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. 300 g serbuk simplisia rimpang bangle dimaserasi menggunakan larutan penyari etanol 96% sebanyak 3.000 mL selama 3x24 jam kemudian disaring. Filtrat dan residu dipisahkan kemudian filtrat diuapkan dengan *Rotavapor*. Hasil maserat yang diperoleh diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 40-50 °C dan maserat dipanaskan di atas penangas air pada suhu \pm 50 °C hingga didapatkan ekstrak kental yang akan digunakan untuk skrining fitokimia dan uji antimikroba⁽⁹⁾.

Hasil rendemen ekstrak tanaman dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut⁽¹⁰⁾:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (g)}}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100 \%$$

Fraksinasi Ekstrak. Pada tahapan ini menggunakan 3 jenis pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda. 2 gram ekstrak *Z. casumounar* Roxb. dilarutkan dengan 50 mL larutan n-heksan, selanjutnya dimasukkan dalam Erlenmeyer yang terdapat *magnetic stirrer* kemudian disentrifus hingga terjadi perubahan warna. Ekstrak difraksinasi kembali menggunakan larutan n-heksan. Residu yang diperoleh difraksinasi kembali menggunakan kloroform, kemudian etil asetat dengan volume yang sama.

Identifikasi KLT. Lempeng KLT diaktivasi pada oven dengan suhu 105-110 °C selama 30 menit kemudian diukur 3 x 7 cm. Dibuat fase gerak dari

campuran n-heksan : etil asetat dengan konsentrasi (7:3) sebanyak 15 mL. Fase gerak dimasukkan ke dalam chamber hingga mencapai kondisi jenuh.

Masing-masing sampel (ekstrak awal, fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat) ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler, kemudian dielusi dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3). Dimasukkan ke dalam chamber. Lempeng KLT diamati di bawah sinar atau lampu UV dengan panjang gelombang 254 dan 365 nm.

Pengujian Golongan Senyawa. Pengujian flavonoid dilakukan dengan cara lempeng KLT disemprotkan dengan $AlCl_3$ dan pereaksi sitroborat. Adanya flavonoid, diindikasikan dari terbentuknya warna kuning-kehijauan. Lempeng KLT disemprotkan asam sulfat dan asam asetat anhidrat untuk menguji adanya steroid/terpenoid. Terbentuknya warna coklat kemerahan pada plat KLT menunjukkan adanya terpenoid. Lempeng KLT disemprotkan pereaksi Dragendorff untuk menguji adanya alkaloid. Terbentuknya warna coklat kekuningan pada plat KLT menunjukkan adanya alkaloid. Pengujian tanin dilakukan dengan cara lempeng KLT disemprotkan pereaksi $FeCl_3$. Terbentuknya warna biru kehijauan pada plat KLT menunjukkan adanya tanin.

Pengujian saponin dilakukan dengan 0,5 g ekstrak yang dilarutkan dalam 10 mL air panas, didinginkan dan kemudian kocok ± 5 menit. Ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N. Jika terbentuk buih (busa) selama ± 10 menit maka dapat dikatakan ekstrak tersebut mengandung senyawa saponin.

Uji Aktivitas Antibakteri. Media yang digunakan adalah *Nutrient Agar* sebanyak 28 g dan glukosa 10 g, dilarutkan dengan aquades 1000 mL dalam Erlenmeyer. Dipanaskan hingga mendidih dan tidak terbentuk gumpalan, lalu diukur pH larutan (pH 6-7). Dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Larutan dituang ke dalam cawan petri yang steril dan ditutup lalu dibiarkan sampai memadat⁽¹¹⁾.

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat rimpang *Z. casumounar* Roxb. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan medium *Nutrient Agar*. Media NA dituang ke dalam cawan petri steril, kemudian dibiarkan memadat. Suspensi bakteri digoreskan menggunakan *swab* steril setelah media memadat. Dimasukkan *paper disc* yang telah ditetesi dengan masing-masing fraksi, DMSO sebagai kontrol negatif dan *paper disk* tetrasiklin sebagai kontrol positif. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur diameter daerah hambatnya menggunakan jangka sorong. Dilakukan

triplo (pengujian 3 kali) dan diukur zona hambatannya.

Penentuan konsentrasi hambat minimum dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan beberapa seri konsentrasi masing-masing ekstrak lalu diuji terhadap bakteri uji *S. aureus*.

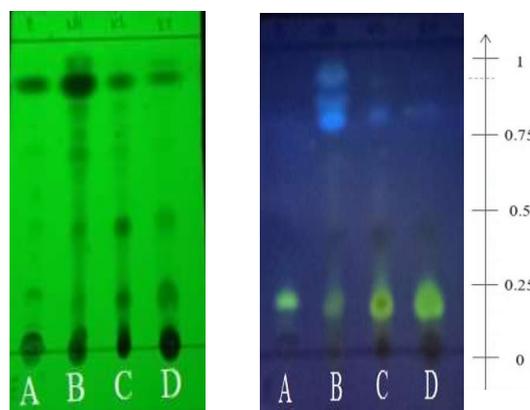
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan data yang diperoleh dapat dikatakan bahwa ekstrak rimpang bangle memenuhi kriteria ekstrak yang baik (>10%). Semakin tinggi nilai rendemen suatu ekstrak, maka semakin banyak komposisi senyawa yang tertarik pada saat ekstraksi⁽⁸⁾. Nilai rendemen berkaitan dengan komposisi senyawa aktif yang terkandung pada suatu tanaman obat (Tabel 1). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi hasil nilai rendemen suatu ekstrak tanaman antara lain, umur atau usia tanaman, varietas, faktor lingkungan tempat tumbuhnya, proses dan waktu panen⁽¹³⁾. Rendemen suatu ekstrak tanaman juga dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan. Berdasarkan penelitian Hasnaeni, dkk⁽¹⁴⁾ membuktikan bahwa metode maserasi menghasilkan nilai rendemen yang lebih besar dibandingkan metode sokletasi dan refluks⁽¹⁴⁾.

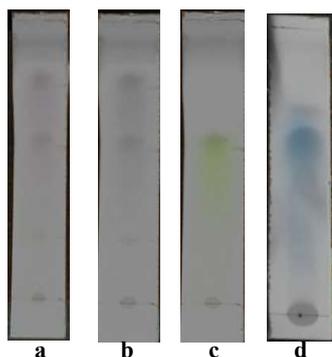
Tabel 1. Data ekstrak kental dan fraksi rimpang bangle.

Simplisia kering (g)	Ekstrak kental (g)	Fraksi (g)		
		n-Heksan	Kloroform	Etil asetat
300	38	8,4	5,2	4,8

Fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat kemudian divalidasi menggunakan metode KLT, menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat dengan konsentrasi 7:3. Dari hasil KLT didapatkan bercak noda yang berbeda (Gambar 1).



Gambar 1. Profil KLT pada sinar tampak UV 254 dan 365 nm : ekstrak kental (A), ekstrak terpurifikasi parsial n-Heksan (B), ekstrak terpurifikasi parsial kloroform (C) dan ekstrak terpurifikasi parsial etil setat (D).



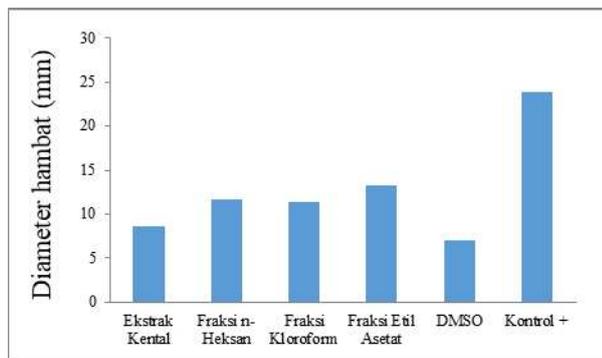
Gambar 2. Profil KLT identifikasi senyawa golongan fraksi etil asetat : uji alkaloid (a), uji steroid (b), uji flavonoid (c), uji tanin (d).

Fraksi etil asetat diaplikasikan (ditotolkan) pada lempeng KLT, kemudian disemprot dengan pereaksi Dragendorff (uji alkaloid), vanilin asam klorida (uji steroid), $AlCl_3$ (uji flavonoid) dan vanilin asam sulfat (uji tanin). Dari hasil pengujian diketahui bahwa pada fraksi etil asetat mengandung senyawa golongan flavonoid dan tanin (Gambar 2). Hal ini dikuatkan dengan hasil penelitian Sanatombi tahun 2017 ditemukan bahwa rimpang bangle memiliki kandungan senyawa aktif berupa flavonoid, fenol, dan alkaloid⁽¹⁵⁾.

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambatan terhadap bakteri uji.

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	R1	R2	R3	
Ekstrak Kental	8,17	9,04	8,55	8,59±0,4
Fraksi n-Heksan	10,52	12,25	12,25	11,67±1,0
Fraksi Kloroform	12,07	11,23	10,87	11,39±0,6
Fraksi Etil asetat	13,52	12,97	13,15	13,21±0,3
DMSO	6,00	7,47	7,60	7,02±0,5
Kontrol Positif	21,12	23,30	27,42	23,94±3,2

Keterangan: Data disajikan dalam rata-rata \pm SBR, n=3



Gambar 2. Diagram uji aktivitas antibakteri.

Efektivitas antibakteri fraksi rimpang bangle ditunjukkan dengan besarnya zona hambatan terhadap *S.aureus* (Tabel 2, Gambar 2). Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antibakteri paling besar pada konsentrasi 10% sebesar $13,21\pm 0,3$ mm terhadap bakteri *S. aureus*.

Dari hasil yang didapatkan pada uji aktivitas antibakteri dilanjutkan dengan metode identifikasi senyawa menggunakan pereaksi semprot pada plat KLT, sampel yang digunakan pada pengujian ini adalah fraksi etil asetat yang dimana dilakukan pemilihan terhadap sampel ini berdasarkan nilai rata-rata zona hambat terbesar yang diperoleh pada pengujian aktivitas antibakteri sebelumnya. Berdasarkan hasil pengujian tersebut didapatkan bahwa senyawa yang positif adalah flavonoid, saponin dan tanin.

SIMPULAN

Fraksi etil asetat yang diperoleh dari ekstrak rimpang bangle memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dengan diameter hambatan rata-rata $13,21\pm 0,6$ mm terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Yayasan Almarisah Madani dan Pimpinan Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi dengan bantuan berupa fasilitas tempat dan peralatan laboratorium sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Hanani E. Buku Ajar Farmakognosi. Jakarta: UPT UHamka Press; 2021. 1–326.
- Nasronudin. Penyakit Infeksi Di Indonesia. 2nd ed. Surabaya: Airlangga University Press; 2019.
- Rohmatilla WN, Arifin MZ, Tauladani SA, Muharam GA, Asia, Pratoko DK dan Nugraha A. Isolasi dan Skrining Aktivitas Antibakteri Fungi Tanah Muara Desa Katialada Gorontalo Lokasi Satu Terhadap *Staphylococcus aureus*. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2022Ags31;12(2):99–108.
- Tracey AT, Unakalh CG. *Staphylococcus aureus* [Internet]. National Library of Medicine; 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
- Batubara I, Trimulia R, Rohaeti E, Darusma LK. Hubungan Lama Distilasi, Kandungan Senyawa, dan Bioautografi Antioksidan Minyak Atsiri Bangle (*Zingiber purpureum*). Indonesian Journal of Essential Oilx. 2018Mei1;3(1):37–44.
- Nurkhasanah, Santoso RD, Fuziah R. The immunomodulatory effect of *Zingiber cassumunar* ethanolic extract on phagocytic activity, nitrit oxide

- and reactive oxygen intermediate secretions of macrophage in mice. In: IOP Conference Series, Materials Science and Engineering. Institute of Physics Publishing.2017Nov1; 1–7.
7. Yuniarto A, Susilawati E, Rahman TA, Setiawa F, Juanda D. Gastric Ulcer Healing Effect of Bangle (*Zingiber cassumunar* (Roxb.)) Rhizome Extract in Aspirin-induced Rats Model. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science Technology. 2017Mei16;1(1):29–34.
 8. Buldani A, Yulianti R, Soedomo P. Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae* Dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro Dengan Metode Difusi Cakram. Seminar Nasional IPTEK Terapa. Tegal; 2017Mei20. 229–238.
 9. Riasari H, Rachmaniar R, Wahyuni S. Evaluation Partch of Rhizoma Extract Kencur (*Kaempferia galanga* L.) as Anti-Inflammatory With Enhancer. Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2019Jun28;6(2):59.
 10. Wijaya H, Novitasari, Jubaidah S. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratioa caselaris* L. Engl.). Jurnal Ilmah Manuntung.2018Ags11;4(1):79–83.
 11. Thohari NM, Pestariati, Istanto. Pemanfaatan Tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Sebagai Media Alternatif NA (*Nutrient Agar*) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Analisis Kesehatan Klinik Sains.2019Des31;8(2):725–37.
 12. Ambari Y, Fitri S, Nurrosyidah IH. Uji Aktivitas Antioksidan Masker Gel Peel-off Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl). Jurnal Farmasi Indonesia. 2021Jul1;18(1).
 13. Zuraida, Sulistiyani, Sajuthi D, Suparto IH. Fenol, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). Jurnal Penelitian Hasil Hutan. 2017Okt15;35(3):211–9.
 14. Hasnaeni, Wisdawati, Usman S. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco). Jurnal Farmasi Galenelika. 2019Okt19;5(2):175–82.
 15. Santoni A. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder, Uji Antimikroba dan Antioksidan Ekstrak Akar Gantung (*Hornstedtia scyphifera* var. *Fusiformis* Holtum) (Sijangkang). Jurnal Riset Kimia. 2019Sep30;10(2):98–102