FRAKSI ETANOL RIMPANG KENCUR (Kaempferia Galanga L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP Bacillus Subtilis dan Escherichia coli

ETHANOL FRACTION OF KENCUR RHIZOME (Kaempferia Galanga L.) AS ANTIBACTERIAL TOWARDS Bacilus Subtilis and Escherichia coli

Yuli Wahyu Trimulyani, Annisa Mulia Anasis, Ari Yanto Program studi Farmasi MIPA, Universitas Tulang Bawang Lampung

> Email : yuli.trimulyani@utb.ac.id 081368165354

Abstract

People were accustomed to use natural ingredients as traditional medicine because it was more economical and has little bit side effects compared with synthetic drugs. One of the herbs that has been widely known in the community as traditional medicine was the kencur rhizome. The kencur rhizome contains flavonoid and saponins which were antibacterial. The purpose of this study was to prove that there was the inhibition in ethanol fraction of kencur rhizome towards the growth of bacillus subtilis and Escherichia coli. The extraction process of kencur rhizome was carried out by maceration method used 70% ethanol solvent and continued with fractionation by using ethanol, n-hexane and chloroform solvents. Then, antibacterial test used diffusion method with concentrations of 25%, 50%, 75%, 100%, positive control of ciprofloxacin and negative control of aquadest. The test was continued by looking at the formation of inhibition zones around the diffusion and measured by using a calipers. The highest diameter of inhibition zone antibacterial activity of kencur rhizome at concentration 100% with a diameter of 22.00 mm in E. Coli and 20.00 mm for B. Subtilis. whereas positive control diameter inhibition zone of ciproflocaxin was 40.00 mm in E. Coli and 40.0 in B. Subtilis. The conclusion of this study was the ethanol fraction of kencur rhizome 100% concentration is the best concentration in the inhibition zone.

Keywords: Antibacterial, Bacillus Subtilis, Escherichia coli, Kencur.

Abstrak

Masyarakat terbiasa menggunakan bahan alam sebagai pengobatan tradisional karena lebih ekonomis dan memiliki efek samping yang kecil dibanding menggunakan obat sintetis. Salah satu tanaman herbal yang sudah di kenal luas di masyarakat sebagai pengobatan tradisional adalah rimpang kencur. Rimpang kencur mengandung senyawa flavonoid dan saponin yang besifat sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya daya hambat Fraksi etanol rimpang kencur terhadap pertumbuhan bacillus subtilis dan Escherichia coli. Proses ekstraksi rimpang kencur dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan dilanjutkan dengan fraksinasi dengan menggunakan pelarut etanol, n-heksan dan klorofom. Kemudian penguujian aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, kontrol positif ciprofloxacin dan kontrol negatif aquadest. Pengujian dilanjutkan dengan melihat terbentuknya zona hambat disekitar sumuran dan dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong. Hasil diameter zona hambat aktivitas antibakteri rimpang kencur yang terbesar pada konsentrasi 100% dengan diameter 22.00 mm pada E. coli dan 20.00 mm untuk B. subtilis, sedangkan kontrol positif ciproflocaxin diameter zona hambat sebesar 40.00 mm pada E. coli dan 40.00 pada B. subtilis. Kesimpulan penelitian ini

adalah fraksi etanol rimpang kencur konsentrasi 100% merupakan konsentrasi terbaik pada zona hambat *B. subtilis* dan *E. coli.*

Kata Kunci: Antibakteri, Bacillus Subtilis, Escherichia coli, Kencur.

PENDAHULUAN

Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) merupakan salah satu tanaman herbal dan sudah di kenal luas di masyarakat baik sebagai pengobatan, diantaranya adalah batuk, mual, bengkak, bisul, diare dan anti toksin seperti keracunan tempe bongkrek dan jamur. Selain itu dikenal juga untuk bumbu makanan. Minuman beras kencur berkhasiat untuk menambah daya tahan tubuh, menghilangkan masuk angin dan kelelaha{1}.

penelitian menginformasikan Hasil bahwa hasil skrining fitokimia ekstrak rimpang kencur terdeteksi mengandung golongan flavonoid, senyawa kimia polifenol, tanin, kuinon, dan monoterpen / seskuiterpen. Penelitian lain menyebutkan bahwa metabolit sekunder yang terdapat pada kencur antara lain alkoloid, saponin, flavonoid, steroid, dan kuinon {2}

Bacillus subtilis dan Escherhia coli merupakan bakteri yang terdapat dalam saluran pencernaan manusia sebagai flora normal, tetapi akan merugikan jika bertambah atau meningkatnya jumlah bakteri tersebut sehingga menggangu metabolisme tubuh, terutama dalam saluran pencernaan. Salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Escherhia coli adalah diare. Ekstrak etanol kencur memiliki daya hambat terhadap bakteri Bacillus subtilis Escherichia coli yaitu dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas Semakin tinggi konsentrasi cakram. ekstrak etanol rimpang kencur, maka semakin besar pula diameter zona hambat pertumbuhan.

Hasil penelitian ekstrak kencur samasama memiliki klasifikasi respon hambat terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*, namun pada penelitian sebelumnya menunjukan bahwa ekstrak kencur mempunyai aktivitas daya hambat lebih kuat terhadap bakteri *Bacillus subtilis* (zona hambat = 29mm) dibandingkan bakteri Escherichia coli (zona hambat = 27mm) {1}. Dari penelitian pembahasan diatas maka peneliti ingin melanjutkan ketahap fraksi etanol rimpang kencur (Kaempferia galanga L.) sebagai antibakteri terhadap Bacillus subtilis dan Escherichia coli. Fraksi etanol rimpang kencur (Kaempferia galanga L.) akan bermanfaat sebagai alternatif pengobatan infeksi dari Bacillus subtilis dan Escherichia coli {2}

METODE PENELITIAN Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah lemari pendingin, incubator, timbangan analitik, oven, autoclave, botol kaca, mikropipet, aluminium foil, cawan petri, tabung reaksi, beker gelas, gelas ukur, corong, Erlenmeyer, jarum ose, lampu Bunsen.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia kencur (*K. galanga* L.), etanol 70%, NaCl, media agar, aquadest, kapas berlemak, kertas wadman, ciprofloxacin.

Pembuatan Simplisia Rimpang Kencur

Tanaman yang digunakan penelitian ini adalah rimpang kencur yang sebanyak 2 kg, selaniutnva dilakukan pengolahan simplisia hingga didapatkan 200 g simplisia. Kemudian proses pengeringan dilakukan mengurangi kadar air sehingga diperoleh yang tidak mudah simplisia rusak, selanjutnya dilkukan pengambilan senyawa aktif yang terkandung di dalam rimpang kencur dilakukan dengan metode maserasi.

Pembuatan Ekstrak Rimpang Kencur

Metode maserasi dipilih kaerna memiliki kelebihan tersendiri diantaranya

JFL

Jurnal Farmasi Lampung

adalah pengerjaannya cukup sederhana, murah, dan mudah dilakukan dan tidak menggunakan suhu tinggi dimungkinkan dapat merusak senyawasenyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak. Proses maserasi dilakukan dengan perendaman 200 g simplisia yang telah dirajang, dmenggunakan pelarut etanol 70% selama 4 hari, pemilihan etanol dengan konsentrasi 70% sebagai pelarut dikarenakan sampel digunakan dalam bentuk uji merupakan bahan kering, sehingga 30% kandungan air berfungsi untuk membuka pori-pori simplisia untuk mempermudah proses penarikan senyawa pada saat ekstraksi. Maserat yang didapat lalu dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 200 ml dan dipekatkan hingga 50 ml.

Pembuatan Fraksi Etanol Rimpang Kencur

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode cair-cair. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa vang bersifat polar, semi polar dan non polar. Fraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu fraksi etanol. Manfaat dari etanol adalah untuk menarik senyawa polar dari rimpang kencur yaitu senyawa flavonoid dan saponin. Fraksi yang didapat lalu dipekatkan menggunakan suhu 50°C hotplate pada hingga mendapatkan 50 ml fraksi etanol {6}

Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi Etanol Rimpang Kencur

Identifikasi Saponin

Fraksi etanol Rimpang Kencur 2 ml +10 ml aquades dikocok kuat 10 menit + 1 tetes HCL {7}.

Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 3 ml larutan uji ditambah dengan H_2SO_4 pekat 2 N, kemudian uji dengan pereaksi Wegner .

Identifikasi Flavonoid

Fraksi etanol cocor bebek 3 ml diteteskan diatas kertas saring lalu diuapkan dengan amoniak {7}.

Pembuatan Media

a. Media NA

Media NA dibuat dengan cara melarutkan NA bubuk sebanyak 2 gram dalam 100 ml aquadest lalu dipanaskan sambil diaduk-aduk hingga larut dan mendidih kurang lebih 10-15 menit. Medium disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit.Setelah itu NA yang masih hangat dalam tabung reaksi masukkan ke diamkan sampai memadat miringkan. kemudian media NA miring tersebut disimpan pada lemari pendingin.

b. Media NB

Dibuat dengan cara melarutkan NB bubuk sebanyak 0,8 gram dalam 100 ml aquadest, dan dipanaskan hingga mendidih kurang lebih 10-15 menit. Setelah itu disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

c. Penyiapan Biakan Bakteri

Bakteri uji yaitu bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* diambil dari biakan murni masing-masing 1 ose kemudian diinokulasikan dengan cara menggoreskan pada medium Nutrien Agar (NA) miring, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam {5}

d. Pelaksanaan Sterilisasi

Alat-alat yang akan digunakan seperti cawan, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Untuk jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran. Sedangkan bahan yang tahan panas seperti aquadest, NA dan NB disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu

121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

e. Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan murni bakteri yang telah diperbanyak dalam media agar miring NA yang telah diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C, biakan diambil 1 mata ose kemudian disuspensikan kedalam media NB dan diinkubasi selama 18 jam pada 37 °C.

f. Uji Daya Antibakteri

Uji daya antibakteri menggunakan metode difusi yaitu metode lubang. cawan petri steril disiapkan dituangkan μL suspensi bakteri ditambahkan media NA, dihomogenkan kemudian biarkan memadat. Beberapa lubang dibuat pada media dengan menggunakan tip mikropipet. Kemudian dimasukkan larutan uji dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif ke dalam lubang-lubang tersebut dengan menggunakan mikropipet. Semua cawan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk disekeliling lubang sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Konsentrasi terkecil menghasilkan zona hambat divariasikan untuk digunakan dalam penentuan konsentrasi hambat minimum.

Kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut:.

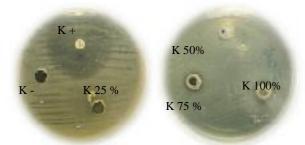
- a. Diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah.
- b. Diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang.
- c. Diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat.
- d. Diameter zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Analisis Data

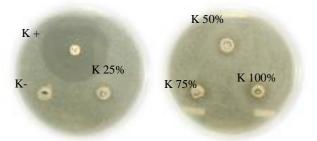
Data hasil uji daya antibakteri dianalisis menggunakan *one way-annova* Test dengan uji lanjut *Duncan* Test menggunakan software SPSS versi 24.

HASIL DAN PEMBAHASAN Uji Daya Antibakteri

Hasil uji daya antibakteri fraksi etanol rimpang kencur terhadap bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* menunjukan adanya zona hambat sekitar sumuran pada konsetrasi 25%, 50%, 70%, 100%, ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif. Hasilnya dapat dilihat pada gambar 4.1 dan 4.2



Gambar 1 Hasil uji daya antibakteri fraksi etanol rimpang kencur pada bakteri *E. coli*



Gambar 2 Hasil uji daya antibakteri fraksi etanol rimpang kencur pada bakteri *B. subtilis*.

Hasil penelitian uji daya antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etanol rimpang kencur dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *B. subtilis* dan bakteri gram negatif *E. coli*. Hal ini terbukti dengan terbentuknya zona bening disekitar sumuran. Hasil uji antibakteri fraksi etanol rimpang kencur dari masingmasing konsentrasi terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Perlakuan	Zona hambat (mm)							
	E. coli				B. subtilis			
	1	2	3	Rata-rata	1	2	3	Rata-rata
Kontrol (-)	0	0	0	0±0,00°	0	0	0	0±0,00°
25%	0	0	0	0±0,00°	15.00	14.00	16.00	15,00±1,00 ^b
50%	0	0	0	0±0,00°	15.00	17.06	21.00	17,68±3,04 ^{bc}
75%	18.00	17.00	19.00	18,00±1,00 ^b	18.00	16.00	20.00	18,00±2,00 ^{bc}
100%	22.00	21.00	23.00	22,00±1,00°	20,00	19.00	22.00	20,33±1,52°
Kontrol (+)	40,00	39,00	41,00	40,00±1,00 ^d	40,00	39,00	42,00	40,33±1,52 ^d

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf tika atas yang sama (dibelakang simpangan buku) tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% Duncan

Tabel diatas menyatakan bahwa hasil uji daya antibakteri menunjukan bahwa semua konsentrasi fraksi etanol rimpang kencur memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri B. subtilis dan E. coli. Rimpang kencur mempunyai daya hambat terhadap bakteri E. coli pada konsentrasi 75% dan 100%, dengan terbentuknya zona hambat disekitar sumuran dengan diameter 18,00 mm, dan 22,00 mm, sedangkan kontrol positif ciprofloxacin mempunyai diameter zona haambat sebesar 40,00 mm, serta kontrol negatif aquadest sebesar 0 mm. Pada B. subtilis mempunyai daya hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, terbukti dengan terbentuknya zona hambat disekitar sumuran dengan diameter 15,00 mm, 17,68 mm, 18,00 mm, 20,33 mm, sedangkan kontrol positif ciprofloxacin diameter zona hambatnya sebesar 40,33 mm, dan kontrol negatif aquadest sebesar 0 mm,. Hasil yang diperoleh menunjukan bahwa meningkatnya konsentrasi fraksi etanol kencur rimpang menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri. Hal ini disebabkan oleh kadar senyawa aktif yang terkandung dalam konsentrasi tinggi lebih

banyak dibandingkan dengan konsentrasi rendah.

Berdasarkan penelitian sebelumnya pada rimpang kencur yakni masih sebatas ekstrak. Pada penelitian tentang ekstrak etanol rimpang kencur terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* menunjukan bahwa pada konsentrasi 25% menghasilkan zona hambat sebesar 13,33 mm dan 3,03 mm, pada konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat sebesar 20,33 mm dan 22,00 mm {1}

Uraian diatas menunjukan bahwa fraksi etanol rimpang kencur menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dan paling baik dibandingkan dengan ekstrak, hal ini disebabkan karena pada fraksi etanol rimpang kencur mengandung golongan senyawa metabolir sekunder yang lebih spesifik dan jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder vand memberikan aktivitas antibakteri lebih banyak tertarik pada fraksi etanol, yaitu senyawa flavonoid dan saponin {3}

Berdasarkan data yang diperoleh fraksi etanol rimpang kencur menunjukan bahwa bakteri *B. subtilis* memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan diameter zona hambat pada bakteri *E. coli.* Perbedaan aktivitas antibakteri ini disebabkan oleh perbedaan gram pada bakteri.

Setelah diperoleh data diameter zona hambat fraksi etanol rimpang kencur (*Keampferia galanga* L.) dilakukan analisis data secara statistik

menggunakan uji *One Way Anova* dikarenakan hanya satu variabel penguji yaitu konsentrasi fraksi etanol rimpang kencur. Syarat dalam uji *One Way Annova* ialah data yang diperoleh harus homogen. Oleh sebab itu dilakukan terlebih dahulu uji *Homogenitas* terhadap bakteri *E. coli* kemudian bakteri *B. subtilis*

Berdasarkan uji homogenitas pada bakteri E.coli data yang didapat memiliki varian yang sama dengan nilai sig. 0,099 > 0,05 sehingga hal ini membuktikan bahwa data yang diperoleh homogen. Hasil uji One Way Anova diperoleh nilai 0,000< 0,05 sehingga hasilnya signifikan. Hal tersebut membuktikan ada pengaruh penggunaan fraksi rimpang kencur terhadap pertumbuhan bakteri. Kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan Duncan dengan nilai sig < 0.05 menunjukkan bahwa setiap konsentrasi menunjukkan perbedaan yang nvata.

Berdasarkan uji homogenitas pada bakteri B. subtilis data yang didapat memiliki varian yang sama dengan nilai sig. 0.130 > 0.05 sehingga hal ini membuktikan bahwa data yang diperoleh homogen. Hasil uji One Way Anova diperoleh nilai sig. 0,000< 0.05 sehingga hasilnva signifikan. Hal membuktikan ada pengaruh penggunaan fraksi etanol rimpang kencur terhadap bakteri. pertumbuhan Kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan Duncan dengan nilai sig < menunjukkan bahwa konsentrasi menunjukkan perbedaan yang nyata.

Untuk menelaah aktivitas biologi kimia yang terdapat dalam senyawa tumbuhan rimpang kencur dilakukan penelitian studi fitokimia dan bioaktivitasnya. Penelitian identifikasi senyawa flavonoid pernah dilakukan yang hasilnya positif mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan pereduksi senyawa yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi,baik maupun non secara enzim enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol. Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara

membentuk senyawa kompleks terhadap protein extraseluler yang mengganggu fungsi sel mikroorganisme dan menghambat siklus sel mikroba{1}

Pada penelitian efektivitas senvawa bioaktif ekstrak kencur menggunakan pelarut aquades dengan pelarut metanol yang memberikan kesimpulan ekstrak metanol kencur menunjukan adanya aktivitas antibakteri dan diduga senyawa yang bersifat sebagai antibakteri pada ekstrak metanol kencur adalah flavonoid, saponin dan minyak atsiri. Saponin juga merupakan senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antibakteri. Saponin dengan bekerja cara mengganggu tegangan permukaan sel bakteri, sehingga sel bakteri mudah bocor dan lisis{1} Pada penelitian ini digunakan ciprofloxacin

sebagai kontrol positif, ciprofloxacin adalah antibiotik yang digunakan untuk menangani berbagai jenis infeksi akibat bakteri, misalnya infeksi pada saluran pencernaan, infeksi pada saluran kemih, infeksi pada mata, dan infeksi menular seksual. Jenis obat ini bekerja dengan cara membunuh atau mencegah perkembangan bakteri yang menjadi penyebab infeksi, maka ciprofloxacin tidak akan efektif untuk mengobati infeksi virus, seperti flu atau pilek{4}.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

- Fraksi etanol rimpang kencur memiliki daya antibakteri terhadap bakteri E. coli dan bakteri B. subtilis
- 2. Fraksi etanol rimpang kencur konsentrasi terbaik adalah pada konsentrasi 100% memiliki daya hambat pada *B. subtilis* sebesar 22,00 mm dan *E. coli* sebesar 22,00 mm, tetapi belum dapat melebihi daya hambat kontrol positif (Ciprofloxacin) 40,33 mm pada *B. sutilis* dan 40.00 mm pada *E. coli*.

JFL Jurnal Farmasi <u>Lampung</u>

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penelitian lebih lanjut disarankan untuk melakukan identifikasi senyawa flavonoid dan saponin yang bersifat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan bakteri *B. subtilis*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada semua dosen beserta staf Laboratorium Biologi farmasi dan Farmakologi Universitas Tulang Bawang.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Fajeriyati N, Farmasi F, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (Kaempferia galanga L .) Pada Bakteri Bacillus subtilis dan Escherichia coli (Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Kencur Rhizome (Kaempferia galanga L .) in Bacillus subtilis and Escherichia coli journal of current pharmaceutical sciences (JCPS).). 2017;1(1):36–41.
- [2] Kencur R. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur Kaempferia galanga L. Dengan Metode DPPH (Skripsi) (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). 2015;
- [3] Kusnandi., Egi Trinia Devi. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak daun seledri (*Apium graveolend* L.) dengan Metode Refluks. e-journal.ups.ac. 2018;675.(10):24-90 p.
- [4] Karsinah dkk. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta; 1994. 163-165 p.
- [5]. Jawetz. Melnick. dan Adelberg's. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi I. Jakarta: Salemba Medika; 2001
- [6]. Pelczar. M. J & Chan. E. C. S. Dasar-

dasar Mikrobiologi. Jilid 2. Ratna Siri Hadioetomo. D, editor. Jakarta: UI-Press; 2012

[7] Kovar A. *Identifikasi Obat*. Edisi 5. Bandung:ITB. 2002