



Combination of Propolis Extract (*Trigona Sp*) and Ginger Rhizome (*Zingiber Officinale Roscoe*) as Alternative Antibiotics against *Escherichia Coli In Vitro*

Abdul W. Jamaluddin, Muhammad F. Mursalim, Andi M. S. Apada

Veterinary Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Hasanuddin

Submitted 10 February 2019; Revised 8 May 2019; Accepted 21 August 2019; Published 18 October 2019

*Corresponding author: abdulwahidjamaluddin@unhas.ac.id

Abstract

Escherichia coli is a gram negative bacterium which is a normal flora in the digestive tract. In birds, this bacterium causes a disease known as colibacillosis. Antibiotics are generally used, but excessive use will cause residues and antibiotic resistance. To avoid resistance or residue, an alternative treatment is needed. The combination of propolis and ginger extract is very promising to develop because both have a synergistic effect as antimicrobials. The research aims to determine the effect of the combination extract on *Escherichia coli* bacteria *in vitro*. We used 8 groups which contain combinations of propolis and ginger extract. We used amoxicillin disk as a positive control, 1% Na CMC as a negative control. The results showed a combination of ginger and propolis extract showed good inhibitory activity against *Escherichia coli* in all groups > 6 mm, and the highest inhibitory activity was K3 (5% propolis combination and 15% ginger extract) with 8.7 mm. The combination of propolis and ginger extract has the potential to be used as an alternative antibiotic to prevent antibiotic resistance from synthetic antibiotics.

Keywords: alternative antibiotics, combination extracts, *Escherichia coli*, ginger, *in vitro*, propolis

Kombinasi Ekstrak Propolis (*Trigona Sp*) dan Rimpang Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) sebagai Antibiotika Alternatif terhadap *Escherichia Coli* secara *In Vitro*

Abstrak

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif yang merupakan flora normal pada saluran pencernaan. Pada unggas, bakteri ini menyebabkan penyakit yang dikenal dengan sebutan kolibacillosis. Antibiotik umum digunakan, namun penggunaan yang berlebihan akan menyebabkan residu dan resistensi antibiotik. Untuk menghindarinya, dibutuhkan alternatif pengobatan. Kombinasi ekstrak propolis dan jahe sangat menjanjikan untuk dikembangkan karena keduanya memiliki efek sinergis sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak kombinasi terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan 8 kelompok perlakuan yang mengandung kombinasi propolis dan ekstrak jahe serta memakai disk amoksisilin sebagai kontrol positif, Na CMC 1% sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak kombinasi jahe dan propolis memiliki aktivitas penghambatan terhadap *Escherichia coli* yang cukup baik di semua kelompok perlakuan > 6 mm, dimana konsentrasi tertinggi pada K3 (kombinasi propolis 5% dan ekstrak jahe 15%) memiliki efek yang paling baik, yaitu 8,7 mm. Kombinasi propolis dan ekstrak jahe memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibiotika alternatif untuk mencegah resistensi antibiotik dari antibiotika sintetik.

Kata Kunci: antibiotik alternatif, ekstrak kombinasi, *Escherichia coli*, *in vitro*, jahe, propolis

1. Pendahuluan

Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat mengakibatkan penyakit sulit diobati karena bakteri menjadi kebal, sehingga harus menggunakan antibiotik dengan dosis lebih tinggi, sebagai konsekuensinya harga menjadi lebih tinggi.¹ Disisi lain, beberapa ekstrak dari tumbuhan sudah banyak diteliti menjadi antibiotik alternatif terutama untuk mencegah *food borne disease* (penyakit yang disebabkan dari mengkomsumsi makanan) akibat infeksi bakteri.² *Escherichia coli* adalah penyebab penting *foodborne disease* di banyak negara, Infeksi pada manusia oleh bakteri *Escherichia coli* sering dihubungkan dengan konsumsi daging sapi yang kurang matang dan dapat menyebabkan diare berdarah, nekrosis jaringan usus, hemorrhagic colitis (HC) dan hemolytic uremic syndrome (HUS).³

Selain itu pada peternakan ayam pedaging penanganan terhadap penyakit unggas yang disebabkan bakteri *E.coli* masih menggunakan antibiotik sintesis bahkan sering kali berlebihan. Antibiotik yang digunakan secara berlebihan ini rentan mengakibatkan residu pada ternak unggas.

Residu antibiotik pada daging hewan dapat menyebabkan resistensi bakteri saat dikonsumsi oleh manusia sehingga sangat berbahaya untuk kesehatan. Oleh karena itu, perlu dicari pengganti antibiotik sintetis tersebut untuk mencegah residunya pada hewan yang akan dikonsumsi oleh manusia sehingga akan menekan angka resistensi antibiotik. Jahe merupakan tanaman yang sangat populer di Indonesia yang banyak digunakan sebagai tanaman obat baik pada hewan dan manusia. Menurut Nursal *et al*,⁴ rimpang jahe-jahean mengandung senyawa antimikroba golongan fenol, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri yang terdapat pada ekstrak jahe merupakan golongan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pemanfaatan herbal sebagai bahan antimikroba telah banyak dilakukan secara global seperti yang juga dilakukan menggunakan buah khas india dan Pakistan yaitu Guar Bean (*Cyamopsis tetragonoloba*).⁵ Penelitian yang dilakukan

Hanief,⁶ bahwa ekstrak tanaman jahe dengan pelarut etanol 96% dapat memberikan efek hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans* ($p < 0,05$).

2. Metode

2.1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah toples, kain saring, mangkok, eksikator, silika gel, botol, pisau, blender, timbangan, Erlenmeyer, evaporator/ rotavapor, *water bath*, *herbs dryer*, bunsen, korek api, rak tabung, *autoclave*, *swab*, label, inkubator, mikroskop, pinset, jangka sorong, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, sendok tanduk, objek glass dan ose.

Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Unhas yang diisolasi pada agar miring, propolis, jahe, *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), *Muller Hinton Agar* (MHA), akuades, *paper disk*, etanol 95%, aluminium foil, alkohol, disk amoksisilin, *crystal violet*, lugol, safranin, DMSO 10%, asam sulfat, reagen (wagner, mayer, dragendorf), serbuk magnesium.

2.2. Prosedur Penelitian

2.2.1. Pembuatan ekstrak propolis dan jahe

Propolis yang digunakan diperoleh dari Kabupaten Bulukumba sedangkan jahe yang kami gunakan diperoleh dari pasar tradisional di Makassar yang homogen sebanyak masing-masing 4 kilogram. Kemudian dilakukan pembuatan ekstrak jahe di Laboratorium Biofarmaka PKP UNHAS. Tahap pertama dilakukan pengeringan pada propolis dan jahe dengan metode *herbs dryer*. Keduanya selanjutnya dibuat simplisia dengan memprosesnya menggunakan blender kering untuk menghasilkan simplisia dalam bentuk serbuk. Kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan ditambah dengan pelarut etanol 96% dengan rasio biomassa sel : pelarut adalah 1:4 (b/v). Campuran biomassa dan pelarut tersebut diekstrak dengan gelombang ultrasonik pada frekuensi 50 kHz selama 30 menit. Hasil ekstraksi tersebut disaring dengan kain saring untuk menghilangkan

Tabel 1. Kombinasi perbandingan ekstrak jahe dan propolis

Kelompok	Perbandingan ekstrak jahe : propolis		Kontrol negatif K9	Kontrol positif K10
	Jahe 1 mL	Propolis 1 mL		
K1	30%	-		
K2	30%	1%		
K3	30%	5%		
K4	15%	-	Na CMC 1% tanpa ekstrak	Disk antibiotik amoksisilin oxid
K5	15%	1%		
K6	15%	5%		
K7	-	1%		
K8	-	5%		

ampasnya sehingga diperoleh ekstrak dengan pelarut. Untuk mendapatkan ekstrak murni, dihilangkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* suhu 49°C, kecepatan 20 rpm, dan tekanan 176 mBar sampai tidak ada lagi pelarut yang menetes. Tahap akhir proses ekstraksi menggunakan etanol 96% untuk mengambil konsentrasi bahan-bahan aktif.

2.2.2. Pembuatan stok bakteri

Pembuatan stok bakteri ini dilakukan untuk memperbanyak bakteri, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni bakteri *E.coli* dalam media agar darah, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C di dalam inkubator.

2.2.3. Pembuatan konsentrasi kombinasi ekstrak propolis dan jahe

Cairan kombinasi propolis dan jahe dibuat berdasarkan komposisi pada Tabel 1, menggunakan pembawa Na CMC 1%. Penelitian ini dikerjakan secara triplet. *Blank disc* dimasukkan ke dalam masing-masing stok variabel konsentrasi selama 10-15 menit sebanyak 20 mikroliter.

2.2.4. Uji daya hambat ekstrak terhadap bakteri

Uji daya hambat ekstrak dengan menggunakan media *Muller Hilton Agar* yang telah diswab dengan bakteri *Escherichia coli* yang telah distandarkan dengan 0,5 Mc Farland, dengan pengulangan sebanyak 3 kali (triplo). Kemudian semua cawan petri diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah diinkubasi, dilakukan pengukuran diameter zona menggunakan jangka sorong.

2.2.5. Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dikumpulkan dan dianalisis secara deksriptif.

3. Hasil

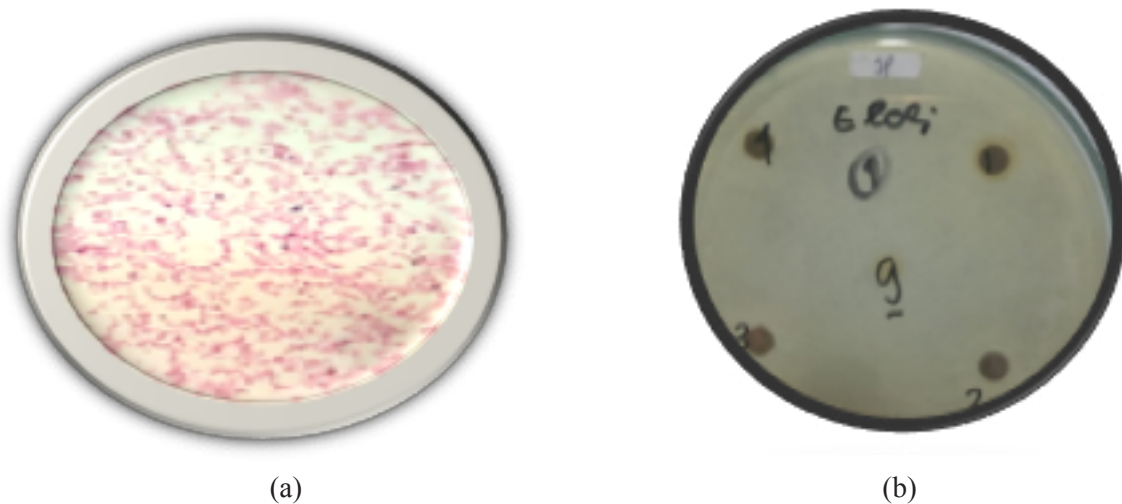
Hasil uji organoleptik dari ekstrak kombinasi jahe dan propolis terdapat pada Tabel 2. Hasil pewarnaan gram didapatkan hasil yang berwarna merah yang menandakan bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif (Gambar 1a). Uji daya hambat ekstrak terhadap bakteri dapat dilihat pada Gambar 1b. Hasil uji efek ekstrak kombinasi propolis dan jahe terdapat pada Tabel 3.

4. Pembahasan

Proses pembuaan ekstrak pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% hal tersebut dikarenakan etanol 70%

Tabel 2. Hasil uji organoleptik dari ekstrak

Analisis ekstrak	Hasil
Bentuk	Ekstrak Kental
Warna	Coklat kehitaman
Bau	Berbau Khas



Gambar 1. (a) Pewarnaan gram *E.coli* sebagai gram negatif, (b) hasil uji efek ekstrak

masih mengandung air yang cukup banyak (30%) yang membantu proses ekstraksi sehingga sebagian senyawa tersebut ada yang dapat tertarik dalam etanol dan ada pula yang tertarik dalam air.⁶

Ekstrak kombinasi ini memiliki efek terhadap bakteri *Escherichia coli* seperti yang telah ditunjukkan pada Gambar 1b. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman jahe-jahean terutama golongan flavonoid, fenol, terpenoid, dan minyak atsiri. Flavonoid juga merupakan salah satu kandungan senyawa kimia yang penting pada propolis, dimana mekanisme dari Senyawa flavonoid yaitu dengan membuat kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri. Hal ini akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis.⁸

Zona hambat terhadap beberapa bakteri gram negatif maupun positif sudah banyak ditemukan.⁹ Apabila diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm, maka ekstrak dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri dan bila diameter zona hambat yang terbentuk lebih kecil dari 6 mm atau tidak terbentuk, maka dikategorikan

ekstrak tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri.¹⁰

Hasil pengukuran uji efek pada Tabel 3. Menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak propolis dan jahe memiliki aktivitas antibakteri pada semua konsentrasi dengan diameter penghambatan mulai dari 6,1 mm. Hal ini menarik karena penelitian ini hanya menggunakan konsentrasi yang relatif kecil. Kelompok dengan aktivitas penghambatan bakteri paling besar adalah kelompok K3 dengan nilai penghambatan 8,7 mm. K3 merupakan kombinasi ekstrak jahe 30% dengan ekstrak propolis 5%. Berdasarkan hal tersebut, ekstrak kombinasi seluruh kombinasi pada penelitian ini memiliki aktivitas menghambat bakteri *Escherichia coli*. Kandungan ekstrak propolis terbesar yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50 mikrogram/mL sudah memberikan penghambatan mulai dari 6,1 mm yang mana hasil ini lebih baik dari yang dilakukan peneliti sebelumnya menggunakan ekstrak metanol propolis untuk penghambatan *E.coli* dengan kandungan 750 mikrogram/mL 6.0 mm.¹¹

Tabel 3. Hasil uji efek ekstrak kombinasi propolis dan jahe

Pengulangan	Kontrol (mm)				Diameter zona hambat (mm)					
	K9	K10	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8
1	6,6	21	6,5	7	8,5	7,1	7,4	8,3	6,8	7,7
2	6,6	25,4	7,1	6,1	8,9	6,5	8,4	6,2	6,2	7,1
Rata-rata	6,6	23	6,8	6,55	8,7	6,8	7,9	7,25	6,5	7,4

Keterangan: K9 = Na CMC 1% (kontrol negatif); K10 = disk amoksisilin 30 µg (kontrol positif)

E. coli yang merupakan bakteri zoonosis mampu memindahkan penyakit dari hewan ke manusia, diantaranya bisa menyebabkan enterohemoragik jika manusia memakan daging yang terkontaminasi *E. coli*.¹²

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak masing masing bagian baik ekstrak jahe maupun ekstrak propolis maka semakin besar diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Itu disebabkan karena semakin tingginya konsentrasi maka semakin banyak ekstrak yang terkandung sehingga senyawa-senyawa yang dimiliki ekstrak semakin banyak. Konsentrasi ekstrak menurut Putri *et al*¹³ akan mempengaruhi kecepatan difusi zat aktif, makin besar konsentrasi ekstrak maka makin cepat difusi akibatnya makin besar daya antibakteri dan makin luas diameter zona hambatan yang terbentuk. Untuk itu, kombinasi yang mengandung jenis rimpang ini kemungkinan juga menjanjikan untuk dikembangkan sebagai zat aktif lain misalnya saja sebagai antioksidan¹⁴ diantaranya gingerol, shogaol dan zingeron¹⁵ ditambah lagi dengan kandungan minyak atsiri dari jahe yang terbukti mampu membunuh bakteri lain seperti *Staphylococcus aureus*.¹⁴

5. Simpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi jahe dan propolis memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada semua kelompok kombinasi dimana konsentrasi tertinggi berada pada Kelompok 3 yang merupakan kombinasi ekstrak jahe 30% dengan ekstrak propolis 5%. Dengan diameter penghambatan 8,7 mm. Kombinasi propolis dan ekstrak jahe ini memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibiotika alternatif untuk mencegah resistensi antibiotik dari antibiotika sintetik.

6. Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada LPPM UNHAS yang telah membiayai penelitian ini.

Pustaka

1. Warbung, Yanti Y., Vonny N.S. Wowor dan Jimmy Posangi. Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Callyspongia sp* terhadap
2. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal e-Gigi, 2013: Vol 1, No 2.
3. Jamaluddin AW, Muslimin LW, Djide MN. Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri zoonosis *Proteus mirabilis* yang diisolasi dari daging ayam broiler. Jurnal As-Syifaa. 2018;10(01): 30-36.
4. Rananda, Rezki Muhammad Aziz Djama, Juliza. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 dalam Daging Sapi yang Berasal dari Rumah Potong Hewan Lubuk Buaya. Jurnal :kesehatan Andalas,2016 Vol 5(3): 614-618.
5. Nursal, Wulandari S., dan Juwita W.S. Bioaktivitas Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. J. Biogenesis 2006;2(2) : 64 66.
6. Singh, N., Arya, R. S., Sharma, T., Dhuria, R. K., Garg, D. D., 2008. Effect of feeding of clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba*) straw based complete feed in loose and compressed form on rumen and haemato-biochemical parameters in Marwari sheep. Vet. Pract., 2008;9 (2): 110-115
7. Hanief S, Efektivits jahe (*Zingiber officinale* R) terhadap bakteri *Streptococcus viridans* (Skripsi), Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah; 2013
8. Sani, Robby Nasrul, Fithri Choirun Nisa, Ria Dewi Andriani, Jaya Mahar Maligan. Analisis Rendemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut Tetraselmis Chuii. Jurnal Pangan Dan Agroindustri 2014:Vol.2 No.2 P.121-126.
9. Kurniawan, Betta dan Wayan Ferly Aryana. Binahong (*Cassia Alata* L) As Inhibitor Of *Escherichia coli* Growth. J Majority. 2015:Volume 4 Nomor 4. 100-104
10. Ajizah, Aulia. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. Bioscientiae Volume 1, Nomor 1, Januari 2004. Hal 31-38
10. Tampedje, Ayu A.D, Josef S.B

- Tuda, Michael, A.Leman. UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* Linn.) TERHADAP PERTUMBUHAN KOLONI *Streptococcus mutans*. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2016: Vol. 5 No. 3:222-228
11. Syed A. T. W. Yusop, Mohd R. Asaruddin, Ahmad H. Sukairi, Wan M. A. W. Sabri. Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Propolis from *Trigona itama* Stingless Bees against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. IJPST - SUPP 1(1), 2018; 13-20
 12. Lucia Winata Muslimin, Abdul Wahid Jamaluddin, Ressay Dwiyanti, Mochammad Hatta. Antimicrobial inhibition on zoonotic bacterial *Escherichia coli* O157: H7 as a cause of food borne disease. American Journal of Biomedical and Life Sciences 2014; Vol 2(6): 163-166
 13. Putri, Andryana Vera Anindya Astri; Noor Hafida Dan Vera Megawati. Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) Pada Konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% Dan 80% Terhadap *Streptococcus Mutans* (In Vitro). Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi. 2017;Vol1.No1:9-14
 14. Triyono Triyono, Anis Y. Chaerunisaa, Anas Subarnas. Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Turmeric Rhizome (*Curcuma domestica* Val), Trengguli Bark (*Cassia fistula* L), and Its Combination with DPPH Method. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2018; Vol 5.No.2 : 43-48
 15. F Firdausni, K Kamsina. Pengaruh pemakaian jahe emprit dan jahe merah terhadap karakteristik fisik, total fenol, dan kandungan gingerol, shogaol tingting jahe (*Zingiber officinale*). Jurnal Litbang Industri. 2018 Vol 8, No 2: 61 – 66
 16. Muhammad Halim Natsir, Eko Widodo dan Muharliem. Penggunaan Kombinasi Tepung Kunyit (*Curcuma domestica*) Dan Jahe (*Zingiber officinale*) Bentuk Enkapsulasi Dan Tanpa Enkapsulasi Terhadap Karakteristik Usus Dan Mikroflora Usus Ayam Pedaging. Buletin Peternakan. 2016. Vol. 40 (1): 1-10