

**KOMBINASI EKSTRAK N-HEKSANA *Alpinia purpurata* DAN *Zingiber officinale*  
DENGAN METODE MASERASI KINETIK DALAM MENGHAMBAT  
PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Eschericia coli***

Windya B. Supriadi, Erna Sulistyowati, Ike Widyaningrum\*  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

**Pendahuluan:** Lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) dan jahe merah (*Zingiber officinale*) memiliki kandungan senyawa aktif yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri. Kombinasi ekstrak dari beberapa tanaman mampu meningkatkan daya hambat bakteri lebih besar bila dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal. Penelitian ini melakukan kombinasi *A. purpurata* dan *Z. officinale* untuk meningkatkan kemampuan aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui daya hambat bakteri kombinasi ekstrak rimpang *A. purpurata* dan *Z. officinale*.

**Metode:** Penelitian *in vitro* ini mengukur daya hambat kombinasi ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* dengan menghitung diameter ZOI *S. aureus* atau *E. coli*. Perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak herbal yang digunakan yaitu P1(0:100), P2(25:75), P3(50:50), P4(75:25), P5(100:0). ZOI dihitung melalui metode difusi cakram. Amoksisilin dan asam nalidiksik kami gunakan sebagai antibiotik pembanding. Analisis statistik menggunakan uji *one way* ANOVA dengan taraf signifikansi adalah  $p < 0,05$ .

**Hasil:** Skrining fitokimia ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* menunjukkan adanya kandungan terpen dan alkaloid. Hasil ZOI *S. aureus* pada kelompok P1, P2, P3, P4, dan P5 berturut-turut yaitu 7,03±1,19, 6,76±1,13, 7,63±1,66, 8,13±0,97, dan 8,36±2,31 mm. Hasil ZOI *E. coli* pada kelompok P1, P2, P3, P4, dan P5 berturut-turut yaitu 11,10±1,01, 9,46±1,55, 9,03±1,56, 10,9±1,47, dan 9±0,26 mm. ZOI amoksisilin dan asam nalidiksik menunjukkan hasil lebih besar.

**Kesimpulan:** Kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* mampu menghambat *S. aureus* dan *E. coli*.

**Kata kunci:** *Alpinia purpurata*, *Zingiber officinale*, N-heksana, bakteri, daya hambat bakteri

\*Penulis Korespondensi:

Ike Widyaningrum, S. Farm, M. Farm

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145, Telp. 0341 578920

e-mail: [ike@unisma.ac.id](mailto:ike@unisma.ac.id)

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY COMBINATION OF EXTRACTS N-HEXANE *Alpinia purpurata* AND *Zingiber officinale* WITH KINETIC MACERATION METHOD IN INHIBITING THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus* AND *Eschericia coli***

Windya B. Supriadi, Erna Sulistyowati, Ike Widyaningrum \*  
Faculty of Medicine Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

**Introduction:** Red galangal (*Alpinia purpurata*) and red ginger (*Zingiber officinale*) contain active compounds to inhibit bacterial growth. The combination of extracts from several plants lead to increase antibacterial activity compared with its single use. In this study, we combined *A. purpurata* and *Z. officinale* to increase the ability of antibacterial activity. The purpose of this study was to evaluate whether combination of *A. purpurata* and *Z. officinale* extracts inhibit bacterial growth.

**Method:** This *in vitro* study measured the inhibition zone of combination *A. purpurata* and *Z. officinale* extracts by calculating *zone of inhibition* diameter of *Staphylococcus aureus* or *Eschericia coli*. The concentration combination of *A. purpurata* dan *Z. officinale* were P1(0:100), P2(25:75), P3(50:50), P4(75:25), P5(100:0). ZOI was calculated by the disc diffusion method. Amoxycillin and nalidixic acid were used as comparisons antibiotic. Data were analyzed using ANOVA one way test with a level of significance is  $p < 0.05$ .

**Results:** Phytochemical screening of extracts N-hexane *A. purpurata* and *Z. officinale* indicates the presence of terpenes and alkaloids. Zoi *S. aureus* results in the groups of P1, P2, P3, P4, and P5 are 7.03±1.19, 6.76±1.13, 7.63±1.66, 8.13±0.97, and 8.36±2.31 mm. Zoi *E. coli* results in the groups P1, P2, P3, P4, and P5 were 11.10±1.01, 9.46±1.55, 9.03±1.56, 10.9±1.47, and 9±0.26 mm. ZOI amoxycillin and nalydicic acid showed greater results.

**Conclusion:** The combination of N-hexane extracts *A. purpurata* and *Z. officinale* is able to inhibit *S. aureus* and *E. coli*.

**Keywords:** *Alpinia purpurata*, *Zingiber officinale*, N-hexane, bacteria, bacterial bland power

\*Corresponding author:

Ike Widyaningrum, S. Farm, M. Farm

Jl. MT Haryono 193 Malang City, East Java, Indonesia, 65145, Telp. 0341 578920

e-mail: [ike@unisma.ac.id](mailto:ike@unisma.ac.id)

## PENDAHULUAN

Lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) dan jahe merah (*Zingiber officinale*) merupakan tanaman herbal yang diketahui memiliki manfaat sebagai antibakteri. Kedua tanaman herbal ini memiliki manfaat bagi tubuh sehingga masyarakat di negara kita ini menggunakannya sebagai obat. Bagian rimpang dari *Alpinia purpurata* (*A. purpurata*) dan *Zingiber officinale* (*Z. officinale*) biasa digunakan sebagai bahan pembuatan obat herbal. Penelitian sebelumnya, rimpang *A. purpurata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, fenolik, dan saponin ini bisa menghambat pertumbuhan bakteri, diantaranya *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*)<sup>1,2</sup>. Sedangkan pada rimpang *Z. officinale* mengandung gingerol yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri<sup>3</sup>. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada *Z. officinale* terutama dari golongan flavonoid, fenol, terpenoid, dan minyak atsiri ini umumnya dapat menghambat pertumbuhan patogen salah satunya bakteri *E. coli*<sup>1,2</sup>. Didalam *Z. officinale* mengandung senyawa yang bersifat antibakteri seperti minyak atsiri, flavonoid, polifenol, dan terpenoid<sup>4</sup>.

Proses ekstraksi perlu dilakukan untuk mendapatkan zat aktif dari *A. purpurata* dan *Z. officinale*. Proses ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel yang akan digunakan. Metode maserasi ini membutuhkan waktu untuk mengekstrak sampel cukup lama dan larutan yang digunakan lebih banyak<sup>5,6</sup>. Keuntungan dari maserasi bisa memecahkan dinding sel sehingga senyawa aktif yang terkandung didalam herbal akan keluar selain itu, adanya tekanan didalam dan diluar yang berbeda<sup>5</sup>. Maserasi cukup baik untuk mengekstrak gingerol dan shogaol karena tidak menggunakan suhu tinggi yang berpengaruh pada kadar gingerol<sup>7</sup>. Dalam penelitian ini, untuk mengoptimalkan senyawa aktif yang didapatkan dengan menggunakan metode maserasi kinetik. Maserasi kinetik akan dilakukan pengadukan secara terus menerus misalnya menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm (*revolutions per minute*). Pengadukan ini dilakukan agar dapat mengurangi waktu hingga menjadi 6-24 jam. Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas<sup>8</sup>. Hasil dari ekstraksi *A. purpurata* dan *Z. officinale* akan di kombinasikan untuk mengoptimalkan aktivitas antibakteri di dalamnya. Ekstrak tunggal bisa memiliki daya hambat yang lebih kecil dibanding dengan ekstrak

yang dikombinasikan karena dari beberapa tanaman memiliki senyawa yang bisa bersinergi<sup>9,10</sup>.

Jenis pelarut yang digunakan adalah N-heksana yaitu hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki enam atom karbon dengan rumus molekul C<sub>6</sub>H<sub>14</sub><sup>11,12</sup>. Salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat non polar. Pelarut N-heksana nantinya akan menarik senyawa non-polar yang terkandung dalam ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale*. Ekstrak N-heksana dari rimpang *A. purpurata* mengandung senyawa terpenoid dan steroid<sup>13</sup>. Pelarut N-heksana juga dapat mengekstraksi minyak atsiri yang juga bersifat non polar<sup>14</sup>.

Ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* akan dibandingkan dengan antibiotik untuk mengetahui efek antibakteri. Antibiotik yang di pakai adalah amoksisilin untuk bakteri gram negatif dan asam nalidiksat untuk gram positif. Amoksisilin mengandung senyawa β-laktam dan berperan menghambat sintesis dari dinding sel bakteri<sup>15</sup>. Asam nalidiksat termasuk golongan flourokuinolon yang bekerja menghambat *topoisomerase* II ( DNA gyrase ) dan *topoisomerase* IV, sehingga tidak terjadi replikasi DNA pada bakteri<sup>16,17</sup>.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai aktifitas antibakteri dengan perbandingan kombinasi ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* (0:100, 25:75, 50:50, 75:25, 100:0) terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dibandingkan amoksisilin dan asam nalidiksat. Menggunakan metode *in vitro* dengan melihat *Zone of inhibition* di sekeliling *paper disc* yang dilakukan pengukuran dengan menggunakan jangka sorong.

## METODE PENELITIAN

### Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental bersifat analitik laboratorik. Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Fakultas kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Januari hingga Juni 2021.

### Pembuatan Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* Metode Maserasi Kinetik

Simplisia *A. purpurata* dan *Z. officinale* didapatkan dari UPT Balai Materia Medica Kota Batu berbentuk serbuk selanjutnya diekstraksi di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Fakultas kedokteran UNISMA. Metode maserasi dilakukan dengan tahap melakukan penimbangan simplisia menggunakan perbandingan 1:10 sebanyak 50 gram *A. purpurata* dan 50 gram *Z. officinale* kemudian direndam dengan 500 ml N-heksana. Kemudian diletakkan pada alat shaker untuk diaduk kecepatan

$\pm 135$  rpm (*revolutions per minute*) pada suhu ruang kurang lebih selama 24 jam. Setelah itu sampel disaring menggunakan *buchner* sehingga menghasilkan filtrat. Filtrat dipekatkan dengan rotary evaporator sampai kandungan pelarut menguap dan habis sehingga tersisa ekstrak berair. Kandungan yang berair dihilangkan dengan cara dioven dengan suhu  $40^{\circ}\text{C}$  hingga diperoleh ekstrak kental.

### Screening Fitokimia

Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* diidentifikasi senyawa metabolit yang terkandung didalamnya.

### Screening Alkaloid

Uji alkaloid menggunakan 2 reagen, ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* masing – masing diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan kedalam 2 tabung reaksi. Ditambahkan dua tetes reagen *mayer* pada tabung pertama. Ditambahkan reagen *dragendorf* pada tabung kedua. Adanya hasil positif alkaloid ditandai endapan putih didasar tabung pertama dan adanya endapan merah bata pada dasar tabung kedua<sup>19</sup>.

### Screening Flavonoid

Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan magnesium (Mg) dan HCl. Hasil adanya flavonoid ditandai adanya warna merah jingga<sup>19</sup>.

### Screening Tanin

Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil adanya tanin terbentuk warna biru kehitaman atau biru violet<sup>20</sup>.

### Screening Fenolik

Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* sebanyak 1 ml kemudian diletakkan dalam tabung reaksi. Larutan  $\text{FeCl}_3$  ditambahkan 2 tetes kedalam tabung reaksi. Hasil adanya fenolik yaitu terbentuknya warna hijau warna hijau sampai biru kehitaman<sup>21</sup>.

### Screening Saponin

Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 ml aquadest dan dikocok selama 1 menit sampai terbentuk busa, lalu ditambahkan HCl 2 tetes. Jika busa dapat bertahan selama 10 menit dikatakan mengandung saponin<sup>21</sup>.

### Screening Terpenoid dan Steroid

Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) dan 2 tetes larutan asam asetat glasial. Hasil adanya terpenoid jika terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga. Hasil adanya steroid jika terjadi perubahan warna menjadi biru atau ungu<sup>20</sup>.

### Pembuatan media bakteri

MHA (*Muller Hinton Agar*) yang sudah dihitung selanjutnya dilarutkan dengan aquades. Kemudian dimasukkan ke dalam *scotte bottle* yang tidak ditutup terlalu rapat dan diautoclave kurang lebih selama 3 jam. Setelah selesai diautoclave kemudian dituang ke dalam cawan petri yang sudah steril, pengerjaan dilakukan dalam *laminar air flow*.

### Menentukan Zone of inhibition

Uji *zone of inhibition* diawali dengan melakukan persiapan media yang telah ditambahkan suspensi *S. aureus* dan *E. coli* didapatkan dari Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Penentuan ZOI dilakukan dengan pengujian metode difusi cakram. Pada media yang sudah memadat dimasukkan cakram kertas dengan diameter 3 mm, masing-masing diisi dengan larutan ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* dengan perbandingan (0:100, 25:75, 50:50, 75:25, 100:0). Sebelumnya Ekstrak didispersikan dengan CMC-Na karena ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* bersifat nonpolar. Konsentrasi CMC-Na yang digunakan adalah 0,5%. Cawan petri kontrol terdiri dari kontrol ekstrak (media + ekstrak), kontrol media (media NA), dan kontrol positif (antibiotik + media) dengan dosis amoksisilin 25 mcg dan asam nalidiksat 30 mcg. Antibiotik lalu didiamkan selama 18 jam pada suhu kamar<sup>18</sup>. Kemudian diukur diameter zona hambat pada daerah bening kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

### Analisa Data

Data yang sudah diperoleh akan dianalisa menggunakan SPSS 25 for windows, selanjutnya dilakukan uji *one way ANOVA*. Taraf signifikansi adalah  $\alpha \leq 0,05$  atau berarti pula memilih interval kepercayaan (*confidence interval*) 95%.

### HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil penelitian ini terdiri atas hasil *screening* fitokimia, hasil uji ZOI kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* terhadap *S. aureus* dibandingkan amoksisilin, dan hasil uji ZOI kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* terhadap *E. coli* dibandingkan asam nalidiksat yang akan dijabarkan pada uraian berikut.

### Hasil Screening Fitokimia

Pada penelitian ini kami melakukan *screening* fitokimia dari Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* untuk mengetahui zat aktif dengan diberikan beberapa reagen untuk golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin,

terpenoid, saponin, dan steroid. Senyawa ekstrak N-heksana yang bersifat nonpolar menarik zat aktif nonpolar seperti alkaloid dan terpenoid.

**Tabel 1 Hasil Screening Fitokimia *A. purpurata* dan *Z. officinale***

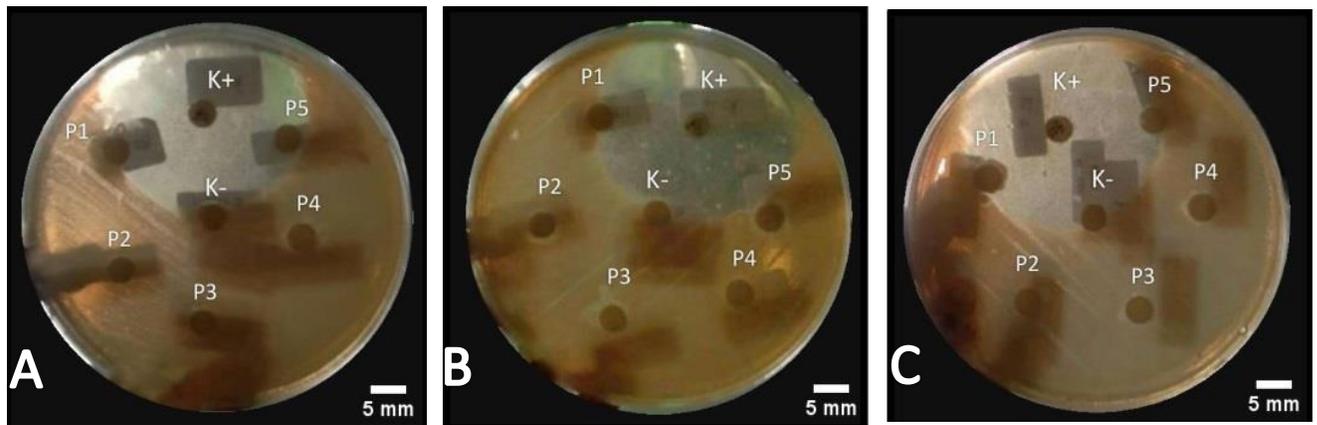
Uji Fitokimia	<i>A. purpurata</i>	<i>Z. officinale</i>
Alkaloid	+	+
Fenol	-	-
Flavonoid	-	-
Tanin	-	-
Terpenoid	+	+
Saponin	-	-
Steroid	-	-

**Keterangan :** (+) terdapat senyawa metabolit; (-) tidak terdapat senyawa metabolit

Hasil *screening* fitokimia pada **Tabel 1** ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* mengandung alkaloid dan terpenoid. Uji alkaloid menggunakan dua reagen, reagen pertama yaitu dengan *mayer* ditandai terbentuk endapan putih dan reagen kedua dengan *dragendroff* ditandai adanya endapan warna merah bata. Uji terpenoid yang ditambahkan reagen  $H_2SO_4$  ditandai perubahan warna merah kecoklatan.

**Hasil Uji Zone of Inhibition Kombinasi Ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* terhadap *S. aureus* dibandingkan Amoksisilin**

Hasil ZOI kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* dengan metode maserasi kinetik dibandingkan dengan amoksisilin terhadap *S. aureus* diukur menggunakan jangka sorong dengan tingkat ketelitian 1 mm, terlihat pada **Gambar 1**



**Gambar 1** A. Zone of inhibition ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* dibandingkan dengan amoksisilin terhadap *S. aureus* replikasi 1; B. Replikasi 2; C. Replikasi 3

Hasil ZOI dilakukan tiga kali pengulangan, masing – masing dalam cakram berisi amoksisilin sebagai kontrol positif, kombinasi konsentrasi A. purpurata dan Z.officinale 0:100, 25:50, 50:50, 75:25, dan 0:100 dengan konsentrasi ditemukan zona bening. Pada kontrol negatif tidak ditemukan adanya zona bening. Hasil pengukuran dapat dilihat pada **Tabel 2**.

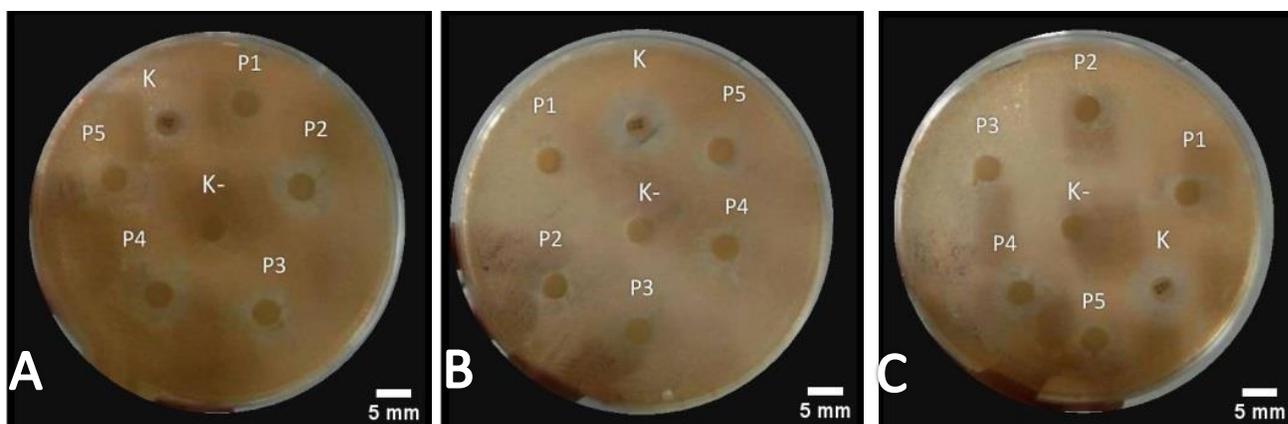
**Tabel 2** hasil pengukuran *Zone of Inhibition S. aureus*

Perbandingan	Diameter (mm)					Amoksisilin
	P1	P2	P3	P4	P5	
Replikasi 1	6,5	5,5	9,4	9,2	10,8	42,6
Replikasi 2	8,4	7,7	7,4	7,9	6,2	41,6
Replikasi 3	6,2	7,1	6,1	7,3	8,1	39,3
$\bar{X} \pm SD$ (mm)	7,03 $\pm$ 1,19	6,76 $\pm$ 1,13	7,63 $\pm$ 1,66	8,13 $\pm$ 0,97	8,36 $\pm$ 2,31	35,16 $\pm$ 9,22*

**Keterangan :** Perbandingan konsentrasi P1(0:100); P2(25:75); P3(50:50); P4(75:25); P5(100:0). Analisa data statistik dengan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan uji *post hoc* LSD dengan signifikansi  $p < 0.05$ . Adanya tanda berbeda menunjukkan perbedaan signifikan.

#### Hasil Uji *Zone of Inhibition* Kombinasi Ekstrak N-heksana *Alpinia purpurata* dan *Zingiber officinale* terhadap *E. coli* dibandingkan Asam nalidiksat

Hasil ZOI kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* dengan metode maserasi kinetik dibandingkan dengan asam nalidiksat terhadap *E. coli* diukur menggunakan jangka sorong dengan tingkat ketelitian 1 mm, terlihat pada **Gambar 2**



**Gambar 2** A. *Zone of inhibition* ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* dibandingkan dengan asam nalidiksat terhadap *E. coli* replikasi 1; B. Replikasi 2; C. Replikasi 3

Hasil kombinasi ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* dibandingkan amoksisilin yang dilakukan tiga kali pengulangan, didapatkan nilai rata – rata tertinggi ZOI 8,36 $\pm$ 2,31 mm pada konsentrasi 100:0

dan terendah 6,76 $\pm$ 1,13 mm pada konsentrasi 25:75. Berdasarkan hasil tersebut efek kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* dengan metode maserasi kinetik menunjukkan ZOI lebih kecil dibandingkan dengan amoksisilin yang mempunyai diameter empat kali lebih lebar.

Uji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk didapatkan nilai  $p > 0.05$  yang artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya *Test of Homogeneity of Variances* didapatkan hasil nilai  $p > 0.05$  yang bermakna data homogen selanjutnya, uji *one way* ANOVA. Hasil uji *one way* ANOVA didapatkan hasil nilai  $p < 0.05$  yang bermakna ada perbedaan bermakna. Setelah itu uji *Post-Hoc* didapatkan hasil  $p < 0.05$  pada data kontrol positif amoksisilin yang berarti berbeda bermakna pada data tersebut. Pada data kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* menunjukkan data nilai  $p > 0.05$  yang berarti tidak ada perbedaan bermakna.

Hasil ZOI dilakukan tiga kali pengulangan, masing – masing dalam cakram berisi asam nalidiksats sebagai kontrol positif, kombinasi konsentrasi *A. purpurata* dan *Z.officinale* 0:100, 25:75, 50:50, 75:25, dan 0:100 ditemukan zona bening. Pada kontrol negatif tidak ditemukan adanya zona bening.

**Tabel 3 Hasil Pengukuran Zone of Inhibition *E.coli***

Perbandingan	Diameter (mm)					Asam nalidiksats
	P1	P2	P3	P4	P5	
Replikasi 1	12	10,1	10,7	11,8	9,2	13,5
Replikasi 2	10	7,7	7,6	9,2	9,1	13,9
Replikasi 3	11,3	10,6	8,8	11,7	8,7	13,3
$\bar{X} \pm SD$ (mm)	11,10 $\pm$ 1,01*	9,46 $\pm$ 1,55	9,03 $\pm$ 1,56	10,9 $\pm$ 1,47	9 $\pm$ 0,26*	13,56 $\pm$ 0,30*

**Keterangan :** perbandingan konsentrasi P1(0:100); P2(25:75); P3(50:50); P4(75:25); P5(100:0). Analisa data statistik dengan uji *one way* ANOVA selanjutnya dilakukan uji *post hoc* LSD dengan signifikansi  $p < 0.05$ . Adanya tanda berbeda menunjukkan perbedaan signifikan.

Hasil kombinasi ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* dibandingkan asam nalidiksats yang telah dilakukan tiga kali pengulangan, nilai rata – rata tertinggi ZOI 11,10 $\pm$ 1,01 mm pada kombinasi ekstrak konsentrasi 0:100 dan nilai rata – rata terendah 9 $\pm$ 0,26 mm pada perbandingan konsentrasi 100:0. Berdasarkan hasil dari data tersebut efek kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* dengan metode maserasi kinetik menunjukkan ZOI lebih kecil dibandingkan dengan asam nalidiksats.

Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai  $p > 0.05$  yang artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya *Test of Homogeneity of Variances* didapatkan hasil nilai  $p > 0.05$  yang bermakna data homogen dan dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA. Hasil uji *one way* ANOVA didapatkan hasil nilai  $p < 0.05$ . Setelah itu uji *Post-Hoc* pada data kontrol positif asam nalidiksats didapatkan hasil  $p < 0.05$  yang berarti berbeda bermakna pada data tersebut sedangkan, antar herbal didapatkan hasil  $p < 0.05$  pada konsentrasi 0:100 yang berarti terdapat perbedaan bermakna terhadap konsentrasi 100:0.

## PEMBAHASAN

### Zat aktif ekstrak N-heksana *A. Purpurata* dan *Z. Officinale*

*Zingiber officinale* termasuk kedalam *Famili Zingiberaceae* dan *Genus Zingiber*. Mempunyai kandungan senyawa seperti gingerol, shogaol, dan zingerone<sup>19</sup>. Senyawa lain yang terkandung dalam *Z. officinale* yaitu minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan polifenol<sup>20,21</sup>. *Z. officinale* juga mengandung fenol, terpenoid, dan alkaloid yang mempunyai aktivitas menghambat bakteri<sup>1</sup>. *A. purpurata* termasuk kedalam *Famili Zingiberaceae* dan *Genus Alpinia*. *A. purpurata* memiliki senyawa aktif alkaloid<sup>22</sup>, terpenoid, steroid, flavonoid, saponin, dan fenolik ini mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri<sup>1</sup>. Untuk mengeluarkan zat aktif perlu dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi kinetik dan menggunakan pelarut N-heksana yang bersifat nonpolar.

Hasil dari ekstraksi selanjutnya akan dilakukan *screening* fitokimia. *Screening* fitokimia merupakan cara untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder didalam ekstrak yang akan diteliti. Berdasarkan hasil *screening* fitokimia, senyawa ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* keduanya mengandung alkaloid dan terpenoid. Ekstrak akan terlarut tergantung pada pelarut, sesuai prinsip *like dissolve like* senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama<sup>23</sup>. Hal ini berbeda Pada penelitian sebelumnya, ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* mengandung senyawa terpenoid dan steroid<sup>13</sup>. Pada penelitian ini ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* tidak mengandung steroid. Uji steroid dilakukan dengan menambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan hasilnya tidak berubah warna menjadi biru atau hijau melainkan berwarna merah atau jingga yang artinya hanya terkandung senyawa terpenoid. Hal ini diduga disebabkan karena konsentrasi steroidnya yang sangat kecil dibandingkan dengan konsentrasi dari terpenoid sehingga steroid tidak terdeteksi<sup>24</sup>. Pada penelitian ini hasil ekstraksi mengandung alkaloid, senyawa alkaloid cenderung bersifat semipolar yang dapat ditarik oleh pelarut polar maupun nonpolar. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* mengandung alkaloid<sup>24</sup>.

### Kemampuan Menghambat Koloni *S. Aureus* Dan *E. Coli*

Kemampuan antibakteri jika memiliki zona hambat lebih dari 20 mm maka dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat, zona hambat 10-20 mm memiliki aktivitas daya hambat kuat, 5-10 mm memiliki aktivitas daya hambat sedang, dan zona hambat kurang dari 5 mm memiliki aktivitas zona hambat lemah<sup>25,26</sup>. Kemampuan ekstrak N-heksana *A.*

*purpurata* dan *Z. officinale* dalam menghambat koloni *S.aureus* memiliki aktivitas zona hambat sedang, sedangkan kemampuan dalam menghambat koloni *E. coli* memiliki aktivitas zona hambat yang kuat. Bakteri bisa dihambat pertumbuhannya dengan merusak dinding sel, merubah molekul asam nukleat dan protein, mengkoagulasi protoplasma, dan merubah permeabilitas dari sel. Kemampuan dalam menghambat ini karena adanya senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* seperti alkaloid dan terpenoid yang mempunyai aktivitas antibakteri<sup>27</sup>.

Terpenoid dapat merusak membran pada bakteri. Mekanisme kerja terpenoid yaitu bereaksi dengan porin yang terdapat di membran bakteri. Terpenoid akan merusak porin yang mengakibatkan masuknya senyawa yang mengakibatkan permeabilitas dinding sel bakteri berkurang, bakteri akan kekurangan nutrisi yang menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati<sup>28</sup>. Alkaloid memiliki kemampuan antibakteri yaitu dengan mengganggu penyusunan komponen peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk utuh mengakibatkan sel mati, selain itu menghambat pembentukan dari sintesis protein yang dapat mengganggu metabolisme dari bakteri<sup>29</sup>.

Perbedaan efektifitas dalam menghambat koloni *S. aureus* dan *E. coli* ini dikarenakan adanya perbedaan dari struktur dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif. Dinding sel gram positif relatif sederhana yang tersusun atas tiga lapis yaitu sitoplasmik, lapisan peptidoglikan, dan lapisan luar atau simpai<sup>30</sup>. Pada bakteri gram negatif dinding selnya lebih kompleks tersusun atas lipoprotein pada lapisan luar, lipopolisakarida pada lapisan kedua, dan peptidoglikan pada lapisan berikutnya<sup>31</sup>. Pada penelitian ini kemampuan daya hambat ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* yaitu kuat terhadap *E. coli* dibandingkan terhadap *S. aureus*. Perbedaan dari zona hambat *E. coli* yang lebih besar dibanding *S. aureus* dikarenakan adanya faktor kepolaran. Ekstrak kombinasi N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* ini bersifat nonpolar, sehingga senyawa yang keluar lebih banyak bersifat nonpolar. Senyawa nonpolar mudah terikat pada dinding sel gram negatif karena didalamnya banyak terkandung lipid. Sedangkan dinding sel gram positif lebih banyak mengandung peptidoglikan yang bisa mengikat senyawa polar sehingga lebih berefek pada senyawa yang bersifat polar<sup>31</sup>.

*Alpinia Purpurata* dan *Z. officinale* mampu menghambat koloni *S. aureus* dan *E. coli*. Berdasarkan hasil penelitian ini bahwa kombinasi seimbang dan kombinasi tidak seimbang ekstrak N-heksana *A. Purpurata* dan *Z. officinale* kurang efektif dibandingkan dengan ekstrak tunggal *A. Purpurata* maupun *Z. officinale*, dapat dilihat dari daya hambat

ekstrak tunggal yang lebih besar. Hasil diameter zona hambat ekstrak tunggal *A. Purpurata* lebih besar terhadap *E. coli* dan ekstrak tunggal *Z. officinale* memiliki zona hambat yang besar terhadap *S. aureus*. Dari penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa konsentrasi ekstrak *A. purpurata* dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% mampu menghambat pertumbuhan *E.coli* dengan zona hambat tertinggi oleh konsentrasi 100% dengan diameter 14.61 mm<sup>32</sup>. Pada Penelitian lain ekstrak *Z. officinale* mampu menghambat koloni *S. aureus* dengan konsentrasi tertinggi 100% dengan diameter yang diperoleh 12,54 mm<sup>33</sup>.

Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak N-heksana *A. purpurata* dan *Z. officinale* mengalami penurunan karena tidak memiliki daya hambat yang kuat dibandingkan ekstrak tunggal. Hal ini diduga adanya faktor senyawa yang terkandung dalam *A. purpurata* dan *Z. officinale* berinteraksi tidak sinergis jika dikombinasikan. Kemungkinan adanya senyawa antagonis pada ekstrak *A. purpurata* yang dapat menghambat atau mengganggu kerja *Z. officinale* ataupun sebaliknya jika diberikan secara bersama<sup>34</sup>. Dari hasil analisa data bahwa ekstrak N-heksana *A.purpurata* dan *Z. officinale* tidak memiliki perbedaan yang signifikan karena diduga keduanya mengandung kadar alkaloid dan terpenoid yang sama sehingga tidak ada perbedaan.

### Kemampuan Antibiotik Sebagai Pembanding

Amoksisilin sebagai pembanding memiliki daya hambat sangat kuat dengan mekanisme kerja membentuk ikatan cincin  $\beta$ -lactam yang akan berikatan dengan *Penisilin Bindings Proteins* (PBPs) menyebabkan terganggunya multiplikasi bakteri<sup>35</sup>. Amoksisilin memiliki sifat *broad spectrum*, lebih efektif pada gram positif karena lapisan dinding sel tidak sekompleks pada bakteri gram negatif, sehingga kemampuan daya hambat yang dihasilkan sangat kuat pada *S. aureus*<sup>36</sup>. Hasil dari Asam nalidiksate sebagai pembanding memiliki daya hambat kuat terhadap *E. coli*. Mekanisme kerja asam nalidiksate yaitu menghambat sintesis dari DNA bakteri yang dapat mengakibatkan kematian dari bakteri<sup>37</sup>. Berdasarkan hasil tersebut sejalan dengan teori bahwa asam nalidiksate efektif terhadap *E. coli*<sup>38</sup>.

Dari penelitian ini hasil antibiotik menunjukkan perbedaan bermakna, dilihat dari diameter amoksisilin dan asam nalidiksate sebagai pembanding yang lebih lebar. Faktor yang memengaruhi lebih kecilnya diameter kombinasi *A. Purpurata* dan *Z. Officinale* yaitu *minimal inhibitory concentration* (MIC) amoksisilin maupun asam nalidiksate sudah diketahui sedangkan kemampuan kombinasi *A. Purpurata* dan *Z. Officinale* belum diketahui konsentrasi yang tepat untuk menghambat *S. aureus* maupun *E. coli*<sup>39</sup>.

## KESIMPULAN

1. *A. purpurata* dapat menghambat koloni *S. aureus* dan *E. coli*
2. *Z. officinale* dapat menghambat koloni *S. aureus* dan *E. coli*
3. Kombinasi *A. Purpurata* dan *Z. Officinale* dapat menghambat namun tidak lebih baik dari tunggal
4. Antibiotik memiliki kemampuan penghambatan lebih baik dibandingkan dengan *A. Purpurata* dan *Z. Officinale*

## SARAN

1. Penelitian menggunakan metode ekstraksi dan pelarut lain untuk identifikasi senyawa
2. Penelitian melakukan uji KHM terlebih dahulu untuk menentukan dosis yang lebih efektif
3. Penelitian menguji aktivitas antibakteri secara *in vivo*
4. penelitian harus mengikuti prosedur salah satunya yaitu pengambilan foto

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) selaku pemberi dana pada penelitian ini, serta tim penelitian yang telah membantu dalam penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Nursal, W., Sr, Wilda S. Bioaktifitas ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biogenesis*. 2006.2(2): 64-66.
2. Handrianto P. Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah *Zingiber Officinale* Var . *Rubrum* Terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. *J Res Technol*. 2016.2(1):1-4.
3. Kim *et al.* [6]-Gingerol, a pungent ingredient of Ginger, inhibits angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005.335: 300- 308.
4. Munda, S., Dutta, S., Haldar,S., dan Lal, M . Chemical Analysis and Therapeutic Uses of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) Essential Oil: A Review. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*.2018. 21(4): 994-1002.
5. Simanjuntak, M. R. Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Ekstrak daun Tumbuhan Senduduk ( *Melastomamalabathricum* L. ) serta Pengujian Efek Sediaan Krim terhadap Penyembuhan Luka Bakar. 2008.
6. Hasrianti, Nurrahmah, Nurasia. Pemanfaatan Ekstrak Bawang Merah Dan Asam Asetat Sebagai Pengawet Alami Bakso. *J Din*. 2016.7(1):9-30.
7. Tririzqi. Ekstrak Senyawa Gingerol Dari Rimpang Jahe Dengan Metode Maserasi Bertingkat. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 2013
8. Departemen Kesehatan RI. Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan obat. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI. 2000.
9. Otieno *et al.* Multi Plant or Single Plant Extracts, Which Is the Most Efective for Local healing in Tanzania. *Afr. J. Trad. CAM*. 2008. 5(2) : 165-172.
10. Pratama D, Suprihadi A, Raharjo, B. Efektivitas Kombinasi Ekstrak Bahan Herbal (Mengkudu, Pepaya, Kunyit) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Aeromonas Hydrophila* Secara *in Vitro*. *Jurnal Biologi*. 2017. 6(2), 7-16.
11. Aziz, T. Pengaruh Pelarut Heksana Dan Etanol, Volume Pelarut, Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *Jurnal Teknik Kimia*. 2009. 16 (1): 1-8.
12. Yuniar, Simatupang E, Putri A, Marwati Y. Pemodelan Isomerisasi Struktur Molekul C6h14 Melalui Studi Komputasi. *Chem J Pendidik Kim dan Ilmu Kim*. 2019;2(1):28-32.
13. Kusriani, R. H. S. Az Zahra. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Senyawa Fenolik Total Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah dan Rimpang Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* L.). *Prosiding SNaPP Kesehatan*. Pissn 2477-2364, Eisnn 2477- 2356. 1(1) 295-305. 2015.
14. Hepsibah AH and Jothi GJ. A comparative study on the effect of solvents on the phytochemical profile and biological potential of *ormocarpum conchinchinse* Auct.Non (Lour.) Merrill. *Int J Pharm Sci*. 2017;9(1): 8-18.
15. Kassaye, L. & Genete, G. Evaluation and comparison of *in-vitro* dissolution profiles for different brands of Amoksisilin capsules. *African Health Sciences*, XIII(2). 2013.
16. John, S. Bradley *et al.* The Use of Systemic Fluoroquinolones. *J Pediatr*. 2006. 118:1287-1292.
17. Raini M. Fluoroquinolones Antibiotics: Benefit and Side Effects. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes RI. 2016;26(3):163-74.
18. Weinstein, M. P., Lewis, J. S., Bobenchik, A. M., Campeau, S., & Cullen, S.K. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30<sup>th</sup> ed. CLSI Supplement M100, Wayne, PA. 2020.
19. Saptiwi, B., Sunarjo, L., & Rahmawati, H. Perasan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) terhadap Daya Hambat Bakteri

- Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Jurnal Riset Kesehatan. 2018;7(2), 61–65.
20. J. B. Tarigan, Zuhra, C. F., & Sihotang, H. Skinning Fitokimia Tumbuhan yang Digunakan Oleh Pedagang Jamu Gendong Untuk Merawat Kulit Wajah Di Kecamatan Medan Baru. Jurnal Biologi Sumatera. 2008;3(1), 1–6.
  21. Srikandi, S., Humaeroh, M., & Sutamihardja, R. Kandungan Gingerol Dan Shogaol Dari Ekstrak Jahe Merah (Zingiber Officinale Roscoe) Dengan Metode Maserasi Bertingkat. Al-Kimiya. 2020;7(2), 75–81.
  22. Mohd Sirat, Md Liamen. (1995). Chemical constituents of Alpinia purpurata, Pertanika Journal of Science & Technology. 1995;3, 1, 67-71
  23. Harbone, J. B. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Penerbit ITB. Bandung. 1987
  24. Meydia, Suwandi R, Suptijah P. Isolasi senyawa steroid dari teripang gama (Stichopus variegatus) dengan berbagai jenis pelarut. J IPB JPHPI. 2016;19(3):362–9.
  25. Davis dan Stout. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. Journal Of Microbiology; 1971. 22 : 4 – 9. 17
  26. Rita, W. S. Isolasi identifikasi dan uji aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid pada rimpang temu putih (Curcuma zedoaria (Berg) Roscoe). Jurnal Kimia. 2010;4: 20-26.
  27. Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Universitas Indonesia Press. 1988
  28. Alamri, F., & Jayanto, I. Uji Daya Hambat Ekstrak Heksana Rimpang Lengkuas Merah (Alpinia purpurata K. Schum) Terhadap Bakteri Klebsiella pneumoniae Isolat Urin Pada Infeksi Saluran Kemih. Pharmacon. 2020;9(1), 47–54.
  29. Darsana, I. Besung, I. Mahatmi, H. Potensi Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli secara In Vitro. Indonesia Medicus Veterinus. 2012.
  30. Risandiyansyah, Rio. Induction of Secondary Metabolism Across Actinobacterial Genera (Thesis). South Australia: Flinders University; 2016.
  31. Jawetz, E., J.L Melnick, E.A. Adelberg. Mikrobiologi Kesehatan. Penerbit Buku Kesehatan. Jakarta. 2005
  32. Parhusip, A. J. N., Gunawan, S. and Paramawati, R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lengkuas (Alpinia galangal L. Swartz) Terhadap Bakteri Patogen Serta Stabilitasnya pada Pemanasan dan pH. Universitas Pelita Harapan, Fakultas Teknik Industri, Jurusan Teknologi Pangan. 2016.
  33. Widiastuti D, Pramestuti N. Terhadap Staphylococcus Aureus Antimicrobial Test Of Red Ginger Extract ( Zingiber Officinale ) Against Staphylococcus Aureus. Sel J Penelit Kesehat. 2018;5(2):43–9.
  34. Darwis W, Hefiedzani M, & Raden RSA. Efektivitas Ekstak Akar Daun Pecut Kuda Stachytarpeha jamaicensis (L) Vahl dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur Candida albicans Penyebab Kandidiasis Vaginalis. Konservasi Hayati. 2012;8(2):1-6
  35. DeLeo, F.R. and Chambers H.F. Reemergence of antibiotik-resistant Staphylococcus aureus in the genomics area; 2009. 119(9): 2464- 2474.
  36. Harvey R.A., Champe P.C. Pharmacology. 4nd ed. China: Lippincott William & Wilkins.p.249-60. 2009
  37. Deeba F, Khan MN, Abbas N, Khan MA, Khan RA. ( 2013 ). Synthesis and biological evaluation of N'-(2-hydroxybenzylidene)-1-ethyl-1,4-dihydro-7-methyl-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carbohydrazide and its complexes with Cu(II), Ni(II), Zn(II) and Fe(III). Asian J Chem.25(15):8351-8354.
  38. Kumar Y, Sharma A, Mani KR. High level of resistance to nalidixic acid in Salmonella enteric serovar typhi in central India. J Infect Dev Ctries; 2009.
  39. Warbung YY, Wowor VNS, Posangi J. Daya Hambat Ekstrak Spons Laut Callyspongia sp terhadap Pertubuhan Bakteri Staphylococcus aureus Mulut kaya akan mikroorganisme , di antaranya yaitu Staphylococcus epidermidis , Staphylococcus aureus , dan beberapa mikrokokus berpigmen yang te. J e-GIGI. 2014;1:1–12.