

PERBANDINGAN EFEK ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK N-HEKSANA *Zingiber officinale* DAN *Alpinia purpurea* DIBANDINGKAN DENGAN ASAM NALIDIKSAT DAN AMOKSISILIN

Mutiaras Silfiani Hadi, Erna Sulistyowati, Ike widyaningrum*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Rimpang *Zingiber officinale* (*Z.officinale*) dan *Alpinia purpurea* (*A.purpurea*) mengandung bahan aktif yang berpotensi menghambat kolonisasi *Escherichia coli* (*E.coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*). Namun, efek kombinasi ekstrak n-heksana *Alpinia purpurea* dan *Zingiber officinale* belum pernah diteliti dan belum pernah dibandingkan dengan asam nalidiksat dan amoksisilin sehingga perlu dilakukan penelitian.

Metode: Penelitian dilaksanakan secara eksperimental *in vitro* menggunakan kombinasi ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* dengan perbandingan konsentrasi sebagai berikut Z0:A100, Z25:A75, Z50:A50, Z75:A25, Z100:A0. Zona hambat kolonisasi *E.coli* dan *S.aureus* menggunakan metode Kirby bauer dengan antibiotik pembanding asam nalidiksat dan amoksisilin. Hasil penelitian dianalisa dengan One-Way ANOVA dengan $p \leq 0.05$ dianggap signifikan.

Hasil: Zona hambat kombinasi ekstrak terhadap *E.coli* berturut-turut yakni $9,96 \pm 1,0\text{mm}$; $11,1 \pm 1,99\text{mm}$; $10,1 \pm 1,4\text{mm}$; $10,83 \pm 1,55\text{mm}$; dan $11,3 \pm 2,55\text{mm}$. Semua konsentrasi tidak berbeda signifikan dengan asam nalidiksat ($p > 0,05$). Zona hambat kombinasi ekstrak n-heksana Z:A terhadap *S.aureus* berturut-turut yakni $6,96 \pm 1,25\text{mm}$; $7,63 \pm 0,70\text{mm}$; $7,13 \pm 0,86\text{mm}$; $6,8 \pm 1,22\text{mm}$; dan $7,73 \pm 1,25\text{mm}$ dengan hasil setiap konsentrasi berbeda signifikan lebih rendah dibandingkan amoksisilin ($p < 0,05$). Hal ini terjadi karena perbedaan pelarut dan metode yang diduga menghilangkan efek antibakteri saat dikombinasikan.

Kesimpulan: Kombinasi ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* tidak memiliki efek antibakteri saat dibandingkan dengan asam nalidiksat dan amoksisilin.

Kata kunci: *Zingiber officinale*; *Alpinia purpurea*; N-heksana; Asam nalidiksat; Amoksisilin.

*Penulis Korespondensi :

Ike Widyaningrum S.Farm., M.Farm

Jl. MT. Haryono 193 Malang City, East Java, Indonesia, 65145, e-mail : ike@unisma.ac.id

THE COMPARISON ANTIBACTERIAL EFFECT COMBINATION OF N-HEXANE EXTRACT *Zingiber officinale* AND *Alpinia purpurea* COMPARED WITH NALIDIXIC ACID AND AMOXICILIN

Mutiaras Silfiani Hadi, Erna Sulistyowati, Ike widyaningrum*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Background: The *Zingiber officinale* (*Z.officinale*) and *Alpinia purpurea* (*A.purpurea*) rhizomes has potential effect to inhibit colonization of *Escherichia coli* (*E.coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*). However, the effect combination of extract n-hexane two rhizomes and comparison with amoxicillin and nalidixic acid is not yet known, so needs some research.

Method: This study is an *in vitro* experimental study. The combination extracts n-hexane Z:A were respectively divided into five percentage ratio Z0:A100, Z25:A75, Z50:A50, Z75:A25, and Z100:A0. Zone of inhibition test against *E.coli* and *S.aureus* using Kirby bauer method compared with amoxicillin and nalidixic acid. This study analyzed with One-Way ANOVA test with level of significance $p < 0.05$.

Result : The zone of inhibition combination extract against *E.coli* respectively is $9,96 \pm 1,0\text{mm}$; $11,1 \pm 1,99\text{mm}$; $10,1 \pm 1,4\text{mm}$; $10,83 \pm 1,55\text{mm}$; and $11,3 \pm 2,55\text{mm}$. All of the concentration didn't significant compared with nalidixic acid ($p > 0,05$). While, against *S.aureus* respectively is $6,96 \pm 1,25\text{mm}$; $7,63 \pm 0,70\text{mm}$; $7,13 \pm 0,86\text{mm}$; $6,8 \pm 1,22\text{mm}$; and $7,73 \pm 1,25\text{mm}$. All of the concentration was significantly lower than amoxicillin ($p < 0,05$). This is due to differences in solvents and methods, which are believed to eliminate the antibacterial effect when combined.

Conclusion: The combination n-hexane extracts of *Z.officinale* and *A.purpurea* didn't have antibacterial effect when compared to nalidixic acid and amoxicillin.

Keyword: *Zingiber officinale*; *Alpinia purpurea*; N-hexane; Nalidixic acid; Amoxicillin.

*Corresponding author :

Ike Widyaningrum S.Farm., M.Farm

MT. Haryono Street 193 Malang City, East Java., Indonesia, 651445, e-mail : ike@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Prevalensi kasus infeksi di Indonesia masih sangat tinggi berdasarkan data dari Kemenkes RI tahun 2015 mencapai 148.703 kasus. Kasus infeksi sering disebabkan oleh bakteri. Hal ini menyebabkan tingginya penggunaan antibiotik¹. Permasalahan yang sering muncul yakni pada penatalaksanaan secara farmakologis kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Penggunaan antibiotik spektrum luas yang ada ditengarai mengalami penurunan efikasinya⁵.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan berbagai macam jenis tanaman rimpang². Rimpang yang sering dipakai sebagai obat yakni *Z.officinale* dan *A.purpurea*. Rimpang tersebut mengandung minyak atsiri yang memiliki senyawa aktif diantaranya flavonoid, fenol, dan terpenoid². Salah satu kandungan yang berperan sebagai antibakteri yakni fenol. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa *Z.officinale* menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat kolonisasi *E.coli* dan *S.aureus*³. Salah satu alternatif untuk mengatasi permasalahan kasus infeksi tersebut yaitu dengan mengombinasikan dengan herbal yang berkhasiat sebagai antibakteri seperti *Z.officinale* dan *A.purpurea*⁷. Hal tersebut dikarenakan ekstrak tanaman yang dikombinasikan memiliki aktivitas antibakteri lebih besar⁷.

Ekstraksi rimpang tanaman tersebut menggunakan metode sokletasi. Metode sokletasi merupakan penyarian menggunakan perlakuan pemanasan agar dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah yang besar dan menggunakan pelarut yang lebih sedikit sehingga lebih efisien. Keuntungan lain dalam penggunaan metode sokletasi yakni sampel dapat diekstraksi secara maksimal karena dilakukan secara berulang²⁶.

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak n-heksana *Z.officinale* (Z) dan *A.purpurea* (A) dalam persentase berturut-turut yakni Z0:A100, Z25:A75, Z50:A50, Z75:A25, Z100:A0. Peneliti menggunakan pembanding asam nalidiksik pada bakteri gram negatif yakni *E.coli* dan amoksisilin pada bakteri gram positif yakni *S.aureus*. Pelarut yang digunakan yakni n-heksana dikarenakan pelarut tersebut dapat menarik senyawa seperti steroid, alkaloid, fenol, terpenoid dan flavonoid dimana senyawa tersebut memiliki efek sebagai antibakteri⁶. Metode Kirby-bauer digunakan untuk mengetahui zona hambat dari antibakteri⁶.

Berdasarkan hal tersebut perlu penelitian lebih lanjut tentang perbandingan efek antibakteri kombinasi ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* dibandingkan dengan asam nalidiksik dan amoksisilin.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental secara in vitro. Perbandingan konsentrasi ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* dalam persen

berturut-turut yakni Z0:A100, Z25:A75, Z50:A50, Z75:A25, Z100:A0. Penelitian ini selanjutnya dilakukan uji zona hambatnya terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dengan metode uji zona hambat bakteri difusi cakram serta uji sensitivitas menggunakan Kirby bauer.

Sampel Penelitian

Kunci determinasi simplisia didapatkan dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Sampel bakteri *E.coli* (kode : VT000122-10EA) dan *S.aureus* (kode : VT000322-10EA) didapatkan dari Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Pembuatan Ekstrak *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea* dengan Metode Sokletasi.

Proses ekstraksi metode sokletasi dilakukan menggunakan satu set alat ekstraksi sokletasi yang terdiri dari kondensor, timbal, pipa f, sifon, labu alas bulat merk scott duran, statif, pemanas (heating mantle) merk isopad, pompa, serta selang untuk mengalirkan air. Perbandingan ekstrak dan pelarut yakni 1:10. Simplisia *Z.officinale* atau *A.purpurea* ditimbang masing-masing sebanyak 50 gram menggunakan neraca digital merk ohaus carat series. Memasukkan pelarut n-heksana sebanyak 500 ml kedalam labu alas bulat dengan batu didih didalamnya. Menghubungkan alat dan memulai proses sokletasi.

Sokletasi dilakukan dengan suhu 60 °C selama 60 menit. Hasil dari ekstraksi sokletasi tersebut dalam bentuk filtrat. Filtrat dituangkan kedalam beaker glass untuk proses pendinginan selanjutnya dilakukan pemisahan ekstrak dan pemekatan. Pemekatan dilakukan dengan set alat rotary evaporator merk rotavapor-buchi sehingga, kandungan pelarut yang masih ada didalam filtrat mengalami penguapan dan tersisa ekstrak berair. Proses selanjutnya, pemekatan ekstrak berair. Kandungan filtrat berair dimasukkan kedalam beaker glass yang ditutup dengan aluminium foil kemudian diuapkan menggunakan oven merk ecocel dengan suhu 40-60°C hingga didapatkan ekstrak kental. Proses selanjutnya, ekstrak kental tersebut dilakukan dispersi menggunakan Carboxymethylcellulose Natrium dengan konsentrasi 1%.

Uji Fitokimia

Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* diidentifikasi menggunakan uji fitokimia. Apabila hasil dinyatakan terdeteksi (+) ditandai dengan adanya endapan atau perubahan warna atau terbentuknya busa setelah ditambahkan suatu reagen pada ekstrak yang dilakukan uji fitokimia tersebut. Hasil dinyatakan tidak terdeteksi (-) apabila tidak adanya endapan atau perubahan warna atau terbentuknya busa setelah ditambahkan suatu reagen pada ekstrak.

Uji Fitokimia Flavonoid

Sebanyak 1mL ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* ditambahkan dengan 3mL etanol konsentrasi 70% dikocok. Campuran tersebut dipanaskan dan disaring. Uji flavonoid dilakukan menggunakan penambahan serbuk Mg sebanyak 0,1gram dan 2 tetes HCl. Perubahan warna menjadi kuning, merah hingga jingga menunjukkan adanya kandungan flavonoid⁷.

Uji Fitokimia Alkaloid

Uji fitokimia alkaloid diawali dengan mengambil sebanyak 1mL ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* ditambahkan dengan 2mL HCl dan dikocok. Selanjutnya, campuran tersebut dibagi menjadi 2 tabung yang berbeda dan ditetesi 2 jenis pereaksi berbeda yakni *dragendorff reagent* dan *mayer reagent*. Adanya kandungan alkaloid apabila terdapat endapan dan perubahan warna menjadi jingga⁷.

Uji Fitokimia Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* dicampur dengan 2 mL aquadest dikocok selama 1 menit. Hasil pengocokan tersebut ditambahkan 2 tetes asam klorida (HCl). Adanya kandungan saponin dalam ekstrak ditandai adanya busa yang tidak hilang⁷.

Uji Fitokimia Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 3-7 tetes ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian pada tiap tabung ditambahkan 1-2 tetes larutan CH₃COOH dan 1-2 tetes H₂SO₄. Perubahan warna menjadi merah atau jingga menandakan kandungan terpenoid. Sedangkan, perubahan warna menjadi biru atau ungu menandakan kandungan steroid⁷.

Uji Fitokimia Fenolik

Sebanyak 1mL ekstrak *Z.officinale* dan *A.purpurea* dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 1-2 tetes FeCl₃ dengan konsentrasi 5%. Perubahan warna menjadi hijau atau biru menunjukkan adanya kandungan fenolik⁷.

Penentuan Zone of Inhibition (ZOI)

Suspensi bakteri dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi *Mueller Hinton Broth Agar* (MHA). Pada media yang sudah memadat kemudian dimasukkan kertas cakram dengan diameter 3 mm, masing-masing diisi dengan larutan ekstrak herbal dengan perbandingan konsentrasi Z:A berturut-turut sebesar Z0:A100, Z25:A75,

Z50:A50, Z75:A25, Z100:A0. Cawan petri terdiri dari kontrol negatif, kontrol media dan kontrol positif lalu didiamkan selama 18 jam pada suhu ruang sesuai pedoman CLSI atau *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2011), kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat pada daerah bening (*clear zone*) yang terdapat disekeliling cakram menggunakan jangka sorong merk nankai dengan satuan (mm) tingkat akurasi $\pm 0,02\text{mm}/\pm 0,001\text{mm}$ ²⁷.

ANALISA DATA

Berdasarkan data yang telah diperoleh dianalisa dengan menggunakan SPSS 26.00 for Windows. Sebelum dilakukan uji hipotesa *One-Way analysis of variance* (ANOVA) dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Uji hipotesa menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan $\alpha=0,05$ dianggap signifikan²⁷.

HASIL PENELITIAN

Hasil Uji Fitokimia

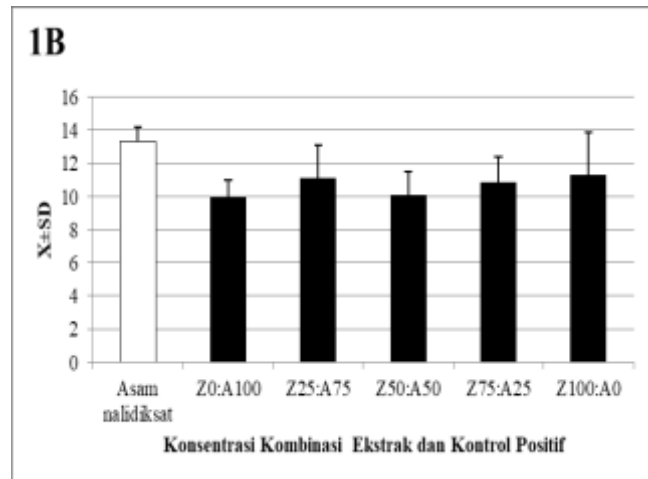
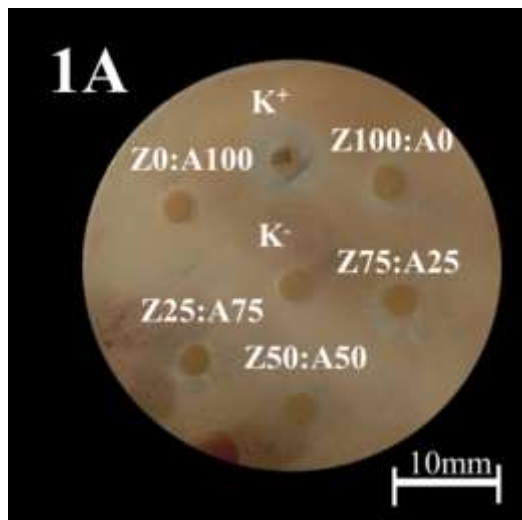
Hasil yang diperoleh dari skrining fitokimia pada ekstrak *Z.officinale* atau *A.purpurea* yaitu adanya senyawa alkaloid yang ditandai adanya endapan jingga pada *dragendorff reagent* dan putih kekuningan pada *mayer reagent*. Pada ekstrak *Z.officinale* atau *A.purpurea* mengandung flavonoid ditandai dengan terbentuknya endapan perubahan warna menjadi jingga. Adanya kandungan terpenoid ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea*

Uji Fitokimia	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Alpinia purpurea</i>
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Terpenoid	+	+
Saponin	-	-
Tanin	-	-
Fenol	-	-
Steroid	-	-

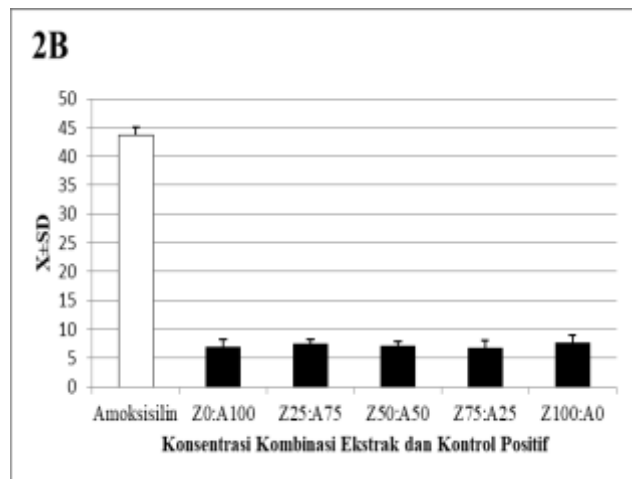
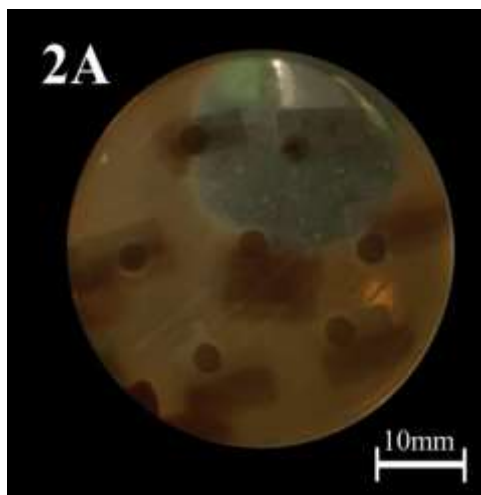
Keterangan : +: Terdeteksi mengandung metabolit tersebut, -: Tidak terdeteksi mengandung metabolit tersebut

Hasil skrining fitokimia sesuai pada **Tabel 1.** menunjukkan bahwa *Z.officinale* dan *A.purpurea* mengandung alkaloid, flavonoid dan terpenoid.



Gambar 1. Hasil ZOI *Escherichia coli*

Keterangan: Gambar 1A. Gambar *clear zone* yang terbentuk pada cawan petri dengan media MHA terhadap *Escherichia coli*. **Gambar 1B.** Diagram hasil rata - rata zona inhibisi konsentrasi kombinasi ekstrak dan asam Nalidiksas. Warna putih menunjukkan kontrol positif. Warna hitam menunjukkan konsentrasi kombinasi ekstrak.



Gambar 2. Hasil ZOI *Staphylococcus aureus*

Keterangan: Gambar 2A. Gambar *clear zone* yang terbentuk pada cawan petri dengan media MHA terhadap *Staphylococcus aureus*. **Gambar 2B.** Diagram hasil rata - rata zona inhibisi konsentrasi kombinasi ekstrak dan amoksisilin. Warna putih menunjukkan kontrol positif. Warna hitam menunjukkan konsentrasi kombinasi ekstrak.

Hasil Uji Zone of Inhibition Kombinasi Ekstrak N-Heksana *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurata* Terhadap *Escherichia coli*

Zona hambat dari *E.coli* diukur berdasarkan zona bening (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter. Hasil zona hambat dari kombinasi ekstrak herbal dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Berdasarkan gambaran *clear zone* yang terbentuk dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong. Hasil *Clear zone* terbaik disekeliling cakram pada koloni *E.coli* yakni asam nalidiksas dan *Z.officinale* konsentrasi tunggal. Hal tersebut juga didukung dengan hasil analisa statistik *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurata* tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap *E.coli* ($p>0,05$). Hasil analisa data tersebut menunjukan nilai rata rata dan standar deviasi pada diagram hasil zona hambat konsentrasi kombinasi dan asam

nalidiksas terhadap *E.coli* dengan perbandingan konsentrasi yang digunakan Z0:A100; Z25:A75; Z50:A50; Z75:A25; Z100:A0 diperoleh hasil $9,96\pm1,0$; $11,1\pm1,99$; $10,1\pm1,4$; $10,83\pm1,55$; $11,3\pm2,55$; dan $13,3\pm0,88$ dengan satuan millimeter.

Hasil Uji Zone of Inhibition Kombinasi Ekstrak N-Heksana *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurata* Terhadap *Staphylococcus aureus*

Zona hambat dari *S.aureus* diukur berdasarkan zona bening (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong merk nankai dengan satuan milimeter. Hasil zona hambat dari kombinasi ekstrak herbal dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Berdasarkan gambaran *clear zone* yang terbentuk dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong. Hasil *Clear zone* terbaik disekeliling cakram pada koloni *S.aureus* yakni amoksisilin dan

Z.officinale konsentrasi tunggal. Hal tersebut juga didukung dengan hasil analisa statistik *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* memiliki perbedaan signifikan yang lebih rendah terhadap daya hambat *S.aureus* ($p < 0,05$). Hasil analisa data tersebut menunjukkan nilai rata rata dan standar deviasi pada diagram hasil zona hambat konsentrasi kombinasi dan amoksisilin terhadap *S.aureus* dengan perbandingan konsentrasi yang digunakan Z0:A100; Z25:A75; Z50:A50; Z75:A25; Z100:A0 diperoleh hasil $6,96 \pm 1,25$ mm; $7,63 \pm 0,70$ mm; $7,13 \pm 0,86$ mm; $6,82 \pm 1,22$ mm; $7,73 \pm 1,25$ mm; dan $43,6 \pm 1,51$ mm.

PEMBAHASAN

Kandungan Metabolit Sekunder Uji Fitokimia Ekstrak N-Heksana *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea*

Pada penelitian ini menggunakan ekstraksi sokletasi dan pelarut n-heksana. Sokletasi dipilih karena membutuhkan pelarut yang sedikit, karena penyarian terjadi berulang-ulang sehingga simplisia terus menerus diperbaharui dan zat yang tersari didalam pelarut lebih banyak. Pelarut n-heksana merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar. N-heksana juga memiliki beberapa keunggulan, diantaranya bersifat stabil, selektif, serta menghasilkan jumlah kecil lilin, albumin dan zat warna⁷.

Ekstrak *Z.officinale* memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Pada penelitian ini menggunakan pelarut yakni n-heksana sehingga senyawa yang dapat ditarik adalah golongan steroid, alkaloid, fenol, terpenoid dan flavonoid⁷. Senyawa flavonoid dari *Z.officinale* adalah 7-4'-dihidroksiflavon⁹. Senyawa flavonoid lainnya adalah quercetin, rutin, catechin, epicatechin, kaempferol dan naringenin¹⁰. Senyawa terpen dari *Z.officinale* adalah β -bisabolene, α -curcumene, zingiberene, α -farnesene, dan β -sesquiphellandrene. Selain itu ekstrak *Z.officinale* diketahui memiliki senyawa polifenol, fenol, dan terpen. Senyawa polifenol dari *Z.officinale* adalah 6-gingerol, 8-gingerol, dan 10-gingerol. Senyawa fenol dari *Z.officinale* adalah quercetin, zingerone, gingerenone-A, dan 6-dehydrogingerdione¹¹.

Ekstrak *A.purpurea* memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Pada penelitian ini pelarut n-heksana dapat menarik senyawa steroid, alkaloid, fenol, terpenoid dan flavonoid⁷. Hasil ini berbeda dengan penelitian oleh kusriani dan zahra yang menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana *A.purpurea* mengandung tanin katekat, kuinon, steroid/triterpenoid. Ekstrak etil asetat dan etanol *A.purpurea* flavonoid, tanin katekat, kuinon, steroid, dan triterpenoid. Nilai kadar senyawa fenolat total ekstrak n-heksana, etil asetat, etanol dari *A.purpurea* dalam persen berturut-turut adalah 2,604, 18,472, 19,609 dengan satuan (mm)¹². Ekstrak dari herbal ini diketahui mengandung

senyawa aktif sitosteryl-3-O-6-palmitoyl- β -D-glucoside dan b-sitosteryl galactoside¹².

Perbedaan hasil diduga disebabkan oleh perbedaan pelarut serta metode ekstraksi yang digunakan. Pada penelitian yang lainnya menggunakan pelarut etanol¹³. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan pelarut n-heksana.

Kemampuan Daya Hambat Kombinasi Ekstrak n-heksana *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea* Terhadap Koloni *Eschericia coli*

Berdasarkan hasil yang ditemukan diketahui bahwa perbedaan konsentrasi kombinasi ekstrak *A.purpurea* dan *Z.officinale* tidak menimbulkan perbedaan ukuran zona inhibisi. Hal ini ditunjukkan oleh uji statistik *One-Way ANOVA* yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara semua konsentrasi dan asam nalidiksate terhadap *E.coli* ($p > 0,05$).

Sedangkan, Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat konsentrasi *Z.officinale* tunggal terhadap bakteri *E.coli* diketahui menunjukkan nilai rata ratanya tertinggi dibanding konsentrasi lain yakni sebesar $11,3 \pm 2,55$ mm dalam menghambat kolonisasi *E.coli*. Hal ini dikarenakan senyawa metabolit dari ekstrak tunggal yang mungkin dapat meningkatkan kemampuan dalam menghambat koloni *E.coli*. Sedangkan, pada kombinasi ekstrak n-heksana *Z.officinale* dan *A.purpurea* dapat mempengaruhi respon yang diharapkan. Karena dengan mengkombinasikan suatu herbal dapat mempengaruhi efek antibakteri dengan cara meningkatkan interaksi senyawa dalam menghambat kolonisasi bakteri atau bahkan dapat berbanding terbalik interaksinya dengan cara melemahkan efeknya.

Diameter zona inhibisi pada asam nalidiksate sebesar $13,2 \pm 0,88$ mm. Namun, karena tingginya nilai standar deviasi maka tidak didapatkan perbedaan yang signifikan¹⁴. Senyawa alkaloid menghambat *quorum sensing* dan menghambat faktor transkripsi dari bakteri¹⁵. Quorum sensing adalah kemampuan bakteri untuk menginduksi faktor transkripsi antar bakteri. Induksi ini dapat mempercepat replikasi bakteri. Pemberian senyawa herbal ini dapat menghambat proses quorum sensing sehingga menghambat replikasinya¹⁵. Mekanisme dari senyawa terpenoid adalah berinteraksi dengan membran bakteri sehingga merusak integritas membran bakteri¹⁶. Kerusakan dari dinding bakteri dapat menyebabkan dinding bakteri mengalami kebocoran membran sehingga bakteri lisis¹⁶.

Pada penelitian ini, berbagai kombinasi konsentrasi ekstrak *Z.officinale* dan *A.purpurea* memiliki efek antibakteri yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif. Hal ini diduga disebabkan bakteri *E.coli* memiliki lapisan dinding yang lebih tebal dibandingkan bakteri gram positif lainnya. Bakteri gram negatif memiliki outer membran yang lebih tebal dan tidak memiliki peptidoglikan sedangkan bakteri gram positif memiliki peptidoglikan yang lebih tebal¹⁷.

Pada penelitian sebelumnya ekstrak *A.purpurea* diketahui memiliki efek antibakteri. Penelitian oleh Masota menunjukkan bahwa ekstrak metanol lengkuas memiliki efek antibakteri dengan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) > 1024 mg/ml¹⁸. Pada penelitian lain, ekstrak *A.purpurea* juga diketahui memiliki efek antibakteri terhadap tuberkulosis¹³. Selain ekstrak *A.purpurea*, ekstrak *Z.officinale* memiliki efek antibakteri. Ekstrak *Z.officinale* memiliki kandungan quercetin yang berinteraksi dengan menghambat DNA girase sehingga menghambat proses sintesis protein. Hambatan proses sintesis protein ini akan menghambat metabolisme bakteri sehingga bakteri tidak dapat bereplikasi¹⁵.

Kandungan yang terdapat pada kedua ekstrak *Z.officinale* dan *A.purpurea* menunjukkan potensi antimikroba karena ketika kontak dengan dinding sel, akan merusak dinding sel sehingga menghambat permeabilitas dan mengganggu fungsi seluler seperti transportasi elektron, nutrisi, sintesis protein dan asam nukleat, dan aktivitas enzimatis, hal ini menyebabkan terjadinya kerusakan sel dan kematian mikroorganisme²⁴.

Kemampuan Daya Hambat Kombinasi Ekstrak N-heksana *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea* Terhadap Koloni *Staphylococcus aureus*

Hasil uji yang dilakukan terhadap seluruh perbandingan konsentrasi herbal menunjukkan perbedaan signifikan namun lebih rendah dibandingkan dengan amoksisilin ($p < 0.05$). Sedangkan, berdasarkan hasil pengukuran zona hambat konsentrasi *Z.officinale* tunggal terhadap bakteri *S.aureus* diketahui menunjukkan nilai rata-rata tertinggi dibanding konsentrasi lain yakni sebesar $7,73 \pm 2,55$ mm dalam menghambat kolonisasi *S.aureus*. Tingginya nilai rata rata diameter zona hambat pada ekstrak tunggal terhadap bakteri diduga dikarenakan ekstrak tunggal mampu memberikan efek meningkatkan kemampuan senyawa kimia dalam suatu herbal dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri. Sedangkan, efek antibakteri pada konsentrasi kombinasi herbal berbanding terbalik terhadap konsentrasi tunggal.

Hal ini dikarenakan didalam rimpang *Z.officinale* terdapat kandungan alkaloid yang berperan dalam merusak komponen penyusun dinding sel bakteri sehingga bakteri mudah mengalami lisis sehingga meningkatkan kemampuan herbal tersebut dalam menghambat koloni *S.aureus*²⁷. Selain itu, adanya kandungan tanin dapat menghambat replikasi dari DNA bakteri *S.aureus* dan terpenoid yang dapat melubangi membran sel bakteri sehingga pertumbuhan atau koloni *S.aureus* menjadi terhambat.

Pada penelitian ini kontrol positif menggunakan amoksisilin. Amoksisilin memiliki mekanisme membunuh bakteri dengan cara menghambat sintesis peptidoglikan sehingga tidak terbentuk dinding sel bakteri. Bakteri yang tidak terbentuk dinding selnya akan pecah¹⁹.

Kombinasi ekstrak *Z.officinale* dan *A.purpurea* memiliki efek antibakteri terhadap *S.aureus*. Bakteri *S.aureus* adalah patogen pada manusia yang menyebabkan berbagai jenis infeksi. Bakteri ini penyebab tersering bakteremia, infeksi endokarditis, dan infeksi pada osteoartikular serta jaringan kulit¹⁸. *S.aureus* merupakan bakteri gram positif sehingga memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan dengan *E.coli* tapi tidak memiliki outer membrane yang menyebabkan mudah untuk dibunuh¹⁶.

Kombinasi ekstrak *Z.officinale* dan *A.purpurea* tidak memiliki efek antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif. Temuan ini diduga disebabkan ekstrak herbal memiliki berbagai senyawa aktif yang bersifat sinergis dan antagonis sehingga tidak efektif untuk membunuh bakteri. Berbeda dengan kontrol positif yang memiliki satu jenis senyawa kimia sehingga lebih efektif untuk membunuh bakteri¹⁸.

Efek antibakteri dari *Z.officinale* dan *A.purpurea* selaras dengan penelitian sebelumnya. Penelitian oleh ferreira *et al* (2018) menunjukkan bahwa senyawa *A.purpurea* memiliki efek antibakteri serta bersifat sinergis dengan amoksisilin dalam membunuh *S.aureus*²⁰. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa *A.purpurea* dapat membunuh *S.aureus* jenis MRSA dan non-MRSA²². Selain *A.purpurea*, ekstrak *Z.officinale* juga diketahui memiliki efek antibakteri terhadap MRSA dan bakteri resisten lainnya²².

Hasil penelitian ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa *Z.officinale* memiliki efek antibakteri terhadap *S.aureus* dengan nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) 0,3 mg/ml²².

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kombinasi ekstrak n-heksana *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea* dengan metode sokletasi memiliki senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, flavonoid dan terpenoid.
2. Kombinasi ekstrak n-heksana *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea* dengan metode sokletasi tidak memiliki perbedaan signifikan terhadap daya hambat koloni *Eschericia coli*.
3. Kombinasi ekstrak n-heksana *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea* dengan metode soklerasi memiliki perbedaan signifikan lebih rendah terhadap daya hambat koloni *Staphylococcus aureus*.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan kesimpulan yang telah diuraikan saran untuk penelitian dikemudian hari diantaranya yakni :

1. Melakukan uji fraksinasi dan isolasi ekstrak sokletasi pada *Zingiber officinale* dan *Alpinia purpurea* untuk mengetahui senyawa *pure compound*.
2. Melakukan sokletasi dengan pelarut selain n-heksana dengan air, etil asetat, metanol.
3. Meningkatkan perbandingan ekstrak dan pelarut diatas 1:10 pada ekstraksi sokletasi.
4. Menambah jumlah pengulangan penelitian minimal tiga kali dalam waktu yang berbeda.
5. Memperhatikan teknik pengambilan gambar dan melakukan *image quantification*.
6. Melakukan penelitian menggunakan jenis bakteri yang lain.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang telah memberikan dana penelitian, serta kepada dr. Rahma Triliana, M.Kes, Ph.D sebagai *peer-reviewer* jurnal penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kemenkes RI. (2015). *Profil Kesehatan Indonesia*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
2. Robi, Y., Kartikawati, S. M., & Muflihati. (2019). *Etnobotani Rempah Tradisional Di Desa Empoto Kabupaten Sanggau Kalimantan Barat*. **Jurnal Hutan Lestari**. Vol. 7, No. 1, 130-142.
3. Tambun, R., Limbong, H. P., Pinem, C., & Manurung, E. (2016). *Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu dan Suhu Pada Ekstraksi Fenol dari Lengkuas Merah*. **Jurnal Teknik Kimia USU**, Vol. 5, No. 4, 53-54.
4. Handrianto, P. (2016). *Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah Zingiber officinale var. Rubrum Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*, **Journal of Research and Technology**, p.1-4.
5. Kementrian Kesehatan RI. (2011). *Situasi Diare di Indonesia, Data dan informasi kesehatan*, Vol. II. p.1-3.
6. Rialita, T. e. (2015). *Aktivitas Antimikroba Minyak Esensial Jahe Merah Terhadap Bakteri Patogen Dan Perusak Pangan*, **Jurnal Agritechnology**, p.43-52.
7. Wahdaningsih, S., Untari, E., & Fauziah, Y. (2014). *Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit Hylocereus polyrhizus Terhadap Staphylococcus epidermidis dan Propionibacterium acnes*, **Pharmaceutical sciences and research journal**, p.180-190.
8. Andriyanto, B., Ardiningsih, P., & Idiawati, N. (2016). *Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Hutan (Baccaurea angulata Merr.)*, **Jurnal Kimia Khatulistiwa**, p.9-11.
9. Herawati, E. I., Saptarini, N. M. (2019). *Studi Fitokimia pada Jahe Merah (Zingiber Officinale Roscoe Var. Sunti Val)*. **Pharmaceutica magazine**, 4(1), p. 1-10.
10. Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., & Rahmat, A. (2010). *Identification and concentration of some flavonoid components in Malaysian young ginger (Zingiber officinale Roscoe) varieties by a high performance liquid chromatography method*. **Molecules Journal**, 15, p.1-4
11. Mao, Q. Q., Xu, X. Y., Cao, S. Y., Gan, R. Y., Corke, H., Beta, T., & Li, H. B. (2019). *Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (Zingiber officinale Roscoe)*. **Foods Journal**, 8(6), p. 185.
12. Kusriani, E. H., Zahra, S, A. (2015). *Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Senyawa Fenolik Total Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah Dan Rimpang Lengkuas Putih (Alpinia Galanga L.)*. **Jurnal Kesehatan**. Bandung 1(1). P.296-298.
13. Villaflores, O. B., Macabeo, A. P., Gehle, D., Krohn, K., Franzblau, S. G., & Aguinaldo, A. M. (2010). *Phytoconstituents from Alpinia purpurata and their in vitro inhibitory activity against Mycobacterium tuberculosis*. **Pharmacognosy magazine**, p.55-67
14. Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2015). *Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism*. **Current medicinal chemistry**, 22(1), p.132-149.
15. Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2005). *Antimicrobial activity of flavonoids*. **International journal of antimicrobial agents**, 26(5), p.343-356.
16. Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M., Endringer, D. C., Fronza, M., & Scherer, R. (2019). *Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oils*. **Molecules Journal**, 24(13), p.1-12.
17. Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). *The bacterial cell envelope*. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, 2(5), p.22-30.
18. Masota, N. E., Vogg, G., Ohlsen, K., & Holzgrabe, U. (2021). *Reproducibility challenges in the search for antibacterial compounds from nature*. **Plos One Journal**, 16(7), p.1-9.
19. Radomska-Leśniewska, D. M., Skopiński, P., Niemcewicz, M., Zdanowski, R., Lewicki, S., Kocik, J., Skopińska-Różewska, E., & Stankiewicz, W. (2013). *The effect of anti-inflammatory and antimicrobial herbal remedy PADMA 28 on immunological angiogenesis and*

- granulocytes activity in mice. Mediators of inflammation*, p.54-62.
20. Ferreira, G., Brito, J. S., Procópio, T. F., Santos, N., de Lima, B., Coelho, L., Navarro, D., Paiva, P., Soares, T., de Moura, M. C., & Napoleão, T. H. (2018). *Antimicrobial potential of Alpinia purpurata lectin (ApuL): Growth inhibitory action, synergistic effects in combination with antibiotics, and antibiofilm activity. Microbial pathogenesis*, 124, p. 152–162.
 21. Aziz, A. N., Ibrahim, H., Rosmy Syamsir, D., Mohtar, M., Vejayan, J., & Awang, K. (2013). *Antimicrobial compounds from Alpinia conchigera. Journal of ethnopharmacology*, 145(3), p. 798–802.
 22. Siddique, H., Pendry, B., & Rahman, M. M. (2019). *Terpenes from Zingiber montanum and Their Screening against Multi-Drug Resistant and Methicillin Resistant Staphylococcus aureus. Molecules Journal*, 24(3), 385, p.66-82.
 23. Gull, I., Saeed, M., Shaukat, H., Aslam, S. M., Samra, Z. Q., & Athar, A. M. (2012). *Inhibitory effect of Allium sativum and Zingiber officinale extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 11, p.8.
 24. Hasan, H. A.; Raauf, A. M. R.; Razik, B. M. A.; Hassan, A. R. (2012). *Chemical composition and antimicrobial activity of the crude extracts isolated from Zingiber officinale by different solvents. Pharmaceutica Analytica Acta*, v.3, n.9, p.1-5.
 25. Puspitasari, A., dan Prayogo, L. (2013). *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia calabura). Semarang. Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta 1*, p.1-8.
 26. CLSI. (2020). *M100-Performance Standart for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30th ed. Wayne, PA19087 USA.
 27. Fathona, D. (2011). *Kandungan Gingerol dan Shogaol, Intensitas Kepadatan dan Penerimaan Panelis Terhadap Oleoresin Jahe Gajah (Zingiber Officinale Var. Roscoe), Jahe Emprit (Zingiber Officinale Var.Amarum), dan Jahe Merah (Zingiber Officinale Var.Rubrum). Jurnal IPB*, p. 2-8.