

Uji In Vitro Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Melainy Elvi Khoiriyah, Anita Puspa Widiyana, Dian Novita W*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* L.) mempunyai kandungan flavonoid dan fenol. Kedua senyawa itu dapat berperan sebagai antibakteri. Dalam riset berikut tujuannya guna memahami besarnya kandungan flavonoid dan fenol serta kegiatan antibakteri dari ekstrak daun lempuyang gajah pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode : Daun *Z. zerumbet* diekstraksi menggunakan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) memakai pelarut etanol 96% *p.a* yang kemudian dilakukan perhitungan rendemen, penetapan kadar flavonoid dan fenol yang diuji menggunakan spektrofotometri. Selanjutnya, dilakukan pengujian antibakteri mengetahui *Zone Of Inhibition* (ZOI) dengan variasi konsentrasi 40%, 60%, dan 80% pada bakteri *Staphylococcus aureus* memakai metode difusi cakram

Hasil : Rendemen yang dihasilkan yaitu 3,96%. Hasil dari skrining fitokimia memaparkan hasil positif mengandung senyawa fenol dan flavonoid. Kadar dari flavonoid dihasilkan $57.97 \pm 0,09$ mg/g EQ dan kadar fenol $27.52 \pm 0,02$ mg/g EQ. Aktivitas antibakteri di uji pada konsentrasi 40%, 60% dan 80% dengan hasil secara berurutan yaitu 8,5 mm; 10,9 mm; dan 12,5 mm. Hasil analisa statistik variasi konsentrasi ekstrak pada pengukuran zona bening terdapat adanya perbedaan signifikan ($P = 0,05$).

Kesimpulan : Ekstrak *Z. zerumbet* memiliki nilai kadar flavonoid sebesar (46.38 mg/gQE) dan kadar fenol sebesar (23.02 mgGAE/g) serta aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi menunjukkan bahwa konsentrasi 80% menghasilkan zona bening yang paling tinggi yaitu 12,5 mm yang dimana dikategorikan daya hambat yang kuat dalam menghambat aktivitas antibakteri

Kata Kunci : *Zingiber zerumbet*, kadar flavonoid, kadar fenol, dan *zone of inhibition* (ZOI)

*Penulis Korespondensi :

Dian Novita W, S. Farm, M. Imun

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

e-mail : diannovi@unisma.ac.id

In Vitro Antibacterial Effectiveness of The Extract (*Zingiber zerumbet* L.) Leaves Against *Staphylococcus aureus*

Melainy Elvi Khoiriyah, Anita Puspa Widiyana, Dian Novita W*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: *Zingiber zerumbet* contains flavonoids and phenols. Both compounds can act as antibacterials. In the following research, the aim is to understand the large content of flavonoids and phenols as well as antibacterial activities of extract lempuyang gajah (*zingiber zerumbet*) leaves on *Staphylococcus aureus* bacteria.

Method: *Z. zerumbet* leaves were extracted using the UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) method using 96% *p.a* ethanol solvent which was then carried out yield calculations, determination of flavonoid and phenol levels tested using a *UV-vis* spectrophotometry. Furthermore, antibacterial testing was carried out to determine the *Zone Of Inhibition* (ZOI) with variations in concentrations of 40%, 60%, and 80% in *Staphylococcus aureus* bacteria using the disc diffusion method.

Results: The resulting yield was 3.96%. The results of phytochemical screening showed positive results containing phenolic and flavonoid compounds. The levels of flavonoids produced were 57.97 ± 0.09 mg/g EQ and phenol levels were 27.52 ± 0.02 mg/gAE. Antibacterial activity was tested at concentrations of 40%, 60% and 80% with results respectively of 8.5 mm; 10.9 mm; and 12.5 mm. The results of statistical analysis of variations in extract concentration in clear zone measurements showed significant differences ($P = 0.05$).

Conclusion: *Z. zerumbet* extract has values for flavonoid levels (46.38 mg/gQE) and phenol levels (23.02 mgGAE/g) as well as antibacterial activity with varying concentrations showing that a concentration of 80% produces the highest clear zone 12.5 mm

Keywords: *Zingiber zerumbet*, flavonoid content, phenol content, and *Zone Of Inhibition* (ZOI)

*Corresponding author:

Dian Novita W, S. Farm, M. Imun

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

e-mail : diannovi@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi oleh bakteri menjadi masalah utama yang sering terjadi pada negara berkembang.¹ Bakteri yang seringkali menimbulkan infeksi terhadap manusia seperti *Staphylococcus aureus*.² Berdasarkan hasil data dari Kemenkes RI No. 129/Menkes/SK/II/2008, angka kejadian infeksi di Indonesia yaitu 9,8% cukup tinggi. Faktor yang mempengaruhi tingginya kejadian infeksi antara lain personal hygiene yang buruk, lingkungan kumuh dan iklim tropis di Indonesia yang kelembapannya masih tinggi.³ Pada tahun 2017, penyakit infeksi berkontribusi lebih dari 20% kematian secara global.⁴ Penyebaran infeksi dari *S. aureus*, sebagian besar disebabkan oleh MRSA. MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) ialah antibiotik yang memiliki golongan beta lactam strain *Staphylococcus aureus*.⁵

Pengobatan utama dalam pelaksanaan penyakit infeksi adalah memberikan obat antibiotika.⁶ Tetapi, pemakaian antibiotik secara berlebih bisa menimbulkan bakteri kebal pada antibiotik, hingga berkurang manfaat dari antibiotiknya.⁷ Tingkat kejadian resistensi antibiotik menyebabkan ditemukannya obat baru yang bersumber dari sumber bahan alam. Satu diantaranya bisa dipakai guna mengatasi penyakit infeksi adalah lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* L.) yang memiliki khasiat seperti antiinflamasi anti tumor, anti aktivitas agregasi platelet, anti alergi, anti piretik, serta antibakteri.⁸

Daun *Z. zerumbet* mempunyai kandungan seperti flavonoid, fenol, saponin.⁹ Kandungan senyawa fenol mempunyai kinerja menjadi antibakteri dengan mendenaturasi protein. Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antibakteri yang mempunyai kapabilitas merusak dinding sel melalui pembentukan ikatan kompleks hingga menimbulkan rusaknya permukaan sel.⁹ Riset terdahulu perihal sifat antibakteri daun lempuyang gajah memaparkan bahwasanya kadar fitokimia bisa mengurangi antibakteri dalam kadar 400 µg/disc, memperoleh zona hambat yakni mulai 6 mm sampai 10 mm.⁸ Daya antibakteri rimpang *Z. zerumbet* menggunakan berbagai kadar 10%; 20%; dan 30% membentuk zona hambat yakni 11,7 mm; 14,2 mm; dan 16,5 mm.¹⁰

Namun, dalam rimpang *Z. zerumbet* terduga mempunyai metabolit seperti senyawa polifenol memiliki efek biologis untuk aktivitas

antibakteri. Sedangkan, pada daun *Z. zerumbet* mempunyai kadar senyawa fenol dan flavonoid yang bisa bertindak menjadi antibakteri. Riset berikut dijalankan guna memahami besarnya kandungan fenol dan flavonoid pada ekstrak etanol daun *Z. zerumbet* serta membuktikan adanya aktivitas antibakteri dengan berbagai konsentrasi (40%; 60% serta 80%) memakai metode difusi cakram pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian berikut dijalankan secara eksperimental laboratoris. Daun *Z. zerumbet* diekstraksi memakai metode UAE (*Ultrasound-assisted extraction*) dengan pelarut etanol 96% *p.a*. Variasi konsentrasi ekstrak sebagai antibakteri terdiri dari 3 yaitu 40%, 60%, dan 80%. Ekstrak daun *Zingiber zerumbet* dilakukan perhitungan persen rendemen skrinning fitokimia, penetapan kadar fenol dan flavonoid memakai Spektrofotometer UV-Vis, dan uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram.

BAHAN DAN ALAT PENELITIAN

Bahan Penelitian

Simplisia daun lempuyang gajah diambil dari UPT Herbal Badan Materia Medika (BMM) Kota Batu dengan nomor determinasi 000.9.3/2991/102.20/2023. Bahan lainnya etanol 96% *p.a*, Mg, HCl pekat, asam galat, kuersetin, FeCl₃ 5%, aquadest, AlCl₃ 2 %, CH₃COONa, MHB, agar, NaCl 0,9%, BaCl 1%, H₂SO₄ 1%, DMSO 10%, Na₂CO₃ 7,5%, folin-cioceltaeu, *Staphylococcus aureus*

Alat Penelitian

Vortex, spektrofotometer UV-Vis, *rotary evaporator* (heidolph), sonikator, timbangan analitik, corong buchner, sendok porselen, pipet volume, kertas saring whatman no. 1, kuvet, petri disposable, pipet, spot duran 500 ml, ose steril, kapas lidi steril, bunsen, jangka sorong, cawan porselen dan satu set alat gelas.

TAHAPAN PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Daun Lempuyang Gajah (*Z. zerumbet*) dengan Metode *Ultrasound-assisted extraction* (UAE)

Pembuatan ekstrak daun *Z. zerumbet* menggunakan metode UAE. Serbuk daun *Z. zerumbet* ditimbang sejumlah 25 gram, diletakan ke erlemeyer dan ditambah pelarut etanol 96% *p.a* 250 mL (1:10). Campuran diletakan pada sonikator dengan diekstraksi dalam waktu 15 menit dan disaring dengan corong Buchner serta diberi kertas saring *Whatman* No.1. Kemudian, UAE kembali dengan pelarut etanol 96% *p.a* 250 mL dengan perlakuan yang sama. Diuapkan memakai *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental daun lempuyang gajah.

Skrinning Fitokimia

Identifikasi Flavonoid

Ekstrak ditimbang 0,3 gram, panaskan dan homogenkan campuran. Campuran disaring dan ditambahkan 0,1 mg dan juga 2 tetes HCl pekat dalam filtrat yang sudah didapatkan. Flavonoid pada sampel berwarna orange, merah, serta hijau dalam lapisan etanol warna merah atau kuning yang terlihat pada 3 menit memperlihatkan sampel positif berisikan flavonoid.¹⁴

Identifikasi Fenol

Ekstrak ditimbang 0,3 gram ditambah 2 tetes larutan FeCl_3 5% dan di vortex selama 1 menit. Reaksi positif diperlihatkan dari warna hijau biru atau hijau.²³

Uji Kandungan Total Flavonoid

Pembuatan Larutan Induk Kuarsetin (100 ppm)

Timbang kuarsetin 10 mg, letakan menggunakan labu ukur 100 mL. Selanjutnya, tambah etanol 96 % *p.a* ad tanda batas dan dilakukan sonikasi selama 2 menit

Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi (10, 20, 30, 40 dan 50 ppm)

Kemudian larutan induk 100 ppm dilakukan kadar kuarsetin 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Dipipet larutan tersebut berturut-turut 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL dan 5 mL. Masukkan pada labu ukur dan tambahkan etanol 96 % *p.a* ad tanda batas. Vortex selama 1 menit.

Penentuan Panjang Gelombang Maximum

Pertama dibuat blanko (etanol 96% 1 mL, AlCl_3 2 % 1 mL, CH_3COONa 1 mL dan aquadest 2 mL) Diukur pada alat spektrofotometri UV-Vis

Larutan kuarsetin dipipet 1 mL dengan konsentrasi 20 ppm dan masukkan dalam tabung reaksi. Kemudian, tambahkan AlCl_3 2% 1 mL, CH_3COONa 1 mL, aquadest 2 mL. Vortex selama 1 menit dan 30 menit dilakukan inkubasi. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 200-500 nm

Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuarsetin

Masing-masing seri konsentrasi (10, 20, 30, 40, 50 ppm) dipipet 1 mL, masukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan AlCl_3 2 % 1 mL, CH_3COONa 1 mL dan aquadest 2 mL. vortex 1 menit dan 30 menit dilakukan inkubasi. Absorbansi panjang gelombang maksimal yang didapat (427,8 nm).

Penetapan Total Flavonoid Ekstrak *Z. zerumbet*

Ekstrak etanol daun *Z. zerumbet* ditimbang 50 mg, larutkan dengan etanol 96% *p.a* ad terbentuk larutan. Masukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilakukan penambahan etanol 96% *p.a* ad tanda batas.

Dilakukan pemipetan 1 mL, masukkan ditabung reaksi dan ditambah AlCl_3 2 % 1 mL, CH_3COONa 1 mL, aquadest 2 mL. Vortex 1 menit dan inkubasi dengan kurun waktu 30 menit. Pengukuran panjang gelombang absorbansi yang diperoleh (427,8 nm) dan dilaksanakan 3 kali replikasi. Setelah itu, hitung kadar total flavonoid

Uji Kandungan Total Fenol

Pembuatan Larutan Induk Standar Asam Galat 1000 ppm

Larutan induk standart asam galat 1000 ppm dilakukan pembuatan dengan menimbang 10 mg. Kemudian serbuk dicampuran dengan aquades agar melarut dan dimasukkan dilabu ukur 10 m. Selanjutnya ditambahkan aquadest hingga tanda batas.

Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5%

Larutan Na_2CO_3 dibuat dengan menimbang 7,5 gram Na_2CO_3 dimasukkan labu ukur 100 mL.

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standart asam galat konsentrasi 110 ppm dilakukan pemipetan 0,5 mL dan masukkan pada tabung reaksi. Larutan

ditambahkan dengan 7,5 ml aquades dan 0,5 mL reagen *folin ciocalteu*, dan 5 menit harus didiamkan. Campuran tersebut dilakukan penambahan Na_2CO_3 7,5 % 1,5 mL selanjutnya selama 35 menit dilakukan inkubasi di tempat yang gelap. Pembacaan serapan panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan batas rentang 500-900 nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Larutan standar asam galat dibuat dengan berbagai kadar 70, 90, 110, 130, 150 ppm. Larutan dari tiap-tiap konsentrasi dipipet 0,5 mL lalu menaruh larutan tersebut ditabung reaksi. Larutan ditambah reagen *folin ciocalteu* 0,5 mL dan aquades 7,5 mL, dibiarkan 5 menit. Campuran ditambah Na_2CO_3 7,5 % 1,5 mL, selama 35 menit dilaksanakan inkubasi di tempat yang gelap. Pembacaan serapan dilakukan panjang gelombang maksimum 780 nm menggunakan alat Spektrofotometer Uv Vis dan dibuat kalibrasi kurva diantara kadar dengan asam galat dengan absorbansi sehingga diperoleh regresi linear.

Penetapan Total Fenol Ekstrak Daun *Z. zerumbet*

Ekstrak daun *Z. zerumbet* dilakukan penimbangan hingga 100 mg selanjutnya dilarutkan pada labu ukur 50 ml memakai aquadest dan ditambah sampai tanda batas aquades. Larutan sampel ekstrak sebanyak 0,5 mL dipipet lalu taruh ditabung reaksi. Larutan ditambah reagen *folin ciocalteu* sebanyak 0,5 mL dan air sebanyak 7,5 mL air, didinginkan dalam waktu 5 menit. Campuran ditambah Na_2CO_3 7,5 % 1,5 mL, dan diinkubasi selama 35 menit di tempat gelap. Pembacaan serapan dijalankan dalam Spektrofotometer Uv-Vis dengan ukuran panjang gelombang 780 nm dengan. Dijalankan 3 kali replikasi.

Uji Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Cakram

Sterilisasi Alat

Sterilisasi peralatan gelas cawan Petri, gelas kimia, berupa tabung reaksi, gelas ukur, serta labu Erlenmeyer dijalankan memakai autoklaf bersuhu 121°C , dalam waktu 15 menit dan bertekanan 1 atm. Alat lain berupa pinset dan jarum disterilkan memakai alkohol 70% dan disinari dengan api Bunsen.

Pembuatan Media

Media MHA dipakai menjadi media uji bakteri. Media dibentuk melalui cara penimbangan MHB 5,25 gram dan agar 3,75 gram. Masukkan ke spot duran dan dilarutkan dengan aquadest ad 250 mL. Selanjutnya, disterilisasi memakai autoklaf bersuhu 121°C selama ± 15 menit. Selanjutnya media MHA steril dituangkan pada masing-masing petri 20-25 mL setelah itu diletakan pada lemari pendingin sampai dihasilkan media agar padat.

Inokulasi Bakteri

Kultur bakteri melibatkan pertumbuhan bakteri pada cawan petri dalam media agar yang diproduksi. Sumber bakteri tersebut dirancang guna memperbanyak dan meremajakan bakteri. Bakteri diambil dalam jumlah tertentu dan dikultur memakai media agar, selanjutnya dilakukan diinkubasi menggunakan alat inkubator dengan suhu 37°C dalam waktu 24 jam.¹¹

Pembuatan Larutan Mc Farland

Larutan McFarland menggunakan standar kekeruhan suspensi bakteri yang diuji. Larutan McFarland 0,5 dibentuk melalui 9,95 ml larutan H_2SO_4 1% dan 0,05 ml larutan BaCl_2 1%. Larutan tersebut selanjutnya diaduk hingga campurannya sempurna.¹²

Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembentukan larutan suspensi bakteri melalui cara memasukkan 1 dosis bakteri ke tabung reaksi yang berisikan 10 mL larutan fisiologis NaCl 0,9%, memasukkan biakan murni ke dalam tabung reaksi dan mengocoknya hingga homogen, selanjutnya disetimbangkan dengan standar McFarland.¹¹

Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol daun lempuyang gajah dibentuk pada sejumlah kadar yang dijalankan pengenceran memakai larutan DMSO (*dimetilsulfoksida*). Kontrol negatif yang dipakai ialah DMSO 10%.¹³ Masing-masing ekstrak dibuat dalam konsentrasi 40%; 60%; serta 80%.

Tabel 1. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Konsentrasi (%)	Berat Ekstrak (gram)	Volume DMSO (mL)
40	1,2	3
60	1,8	3
80	2,4	3

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian menggunakan antibakteri dijalankan dengan metode difusi cakram. Pengujiannya berpedoman terhadap Wahdaningsih dkk (2014) dengan sejumlah modifikasi, diawali dengan inokulasi suspensi bakteri pengujian ke permukaan supaya memakai kapas steril. Sebuah kapas diletakan pada suspensi bakteri yang sudah disetimbangkan kekeruhannya sesuai persyaratan McFarland, selanjutnya ditempatkan dalam cawan Petri yang berisikan agar-agar yang sudah dipadatkan dan didiamkan kering dalam waktu 3 sampai 5 menit.

Selanjutnya *paper disc* dengan ukuran 6 mm direndam dalam sampel ekstrak etanol daun lempuyang gajah dengan konsentrasi 40%; 60; dan 80% dalam waktu 30 menit. Piring kertas diletakkan pada permukaan dudukannya dengan pinset pada kedudukan sesuai keinginan. Kontrol negatif yang dipakai ialah DMSO 10%.

Cawan petri dilakukan inkubasi dalam waktu 1 x 24 jam bersuhu 37°C pada inkubator. Sesudah inkubasi, zona hambat yang dihasilkan dicermati dan diukur memakai jangka sorong melalui mengamati area transparan disekeliling cawan yang menandakan tidak ada perkembangan bakteri. Perawatan tersebut diulangi hingga 3 kali.

Pengolahan Data dan Analisa Statistik

Rendemen

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa simplisia}} \times 100\%$$

Kadar Total Flavonoid

$$\text{Total Flavonoid} = \frac{Y \times Fp \times V}{w}$$

Keterangan:

Y : Kadar senyawa pada larutan sampel (ppm)

Fp : Faktor pengenceran

V : Volume larutan sampel (L)

W : Bobot sampel (g)

Kadar Total Fenol

$$\text{Total Fenol} = \frac{C \times V \times Fp}{g}$$

Dimana:

c : kadar sampel,

v : volume ekstrak yang dipakai,

fp : faktor pengenceran,

Analisa Statistik

Data hasil riset yang dijalankan melalui pemakaian SPSS versi 16 for Windows yang umum serta konsisten (sesudah diujikan memakai uji Levene dan Shapiro Wilk) akan dianalisis memakai analisis varians satu arah (ANOVA) dengan keyakinan 95% guna memahami keberadaan dampak nyata pemakaian ekstrak kulit manggis pada perkembangan *S.aureus*, selanjutnya diteruskan dengan *Post-Hoc* LSD guna memahami perbedaan nyata antar data kelompok yang diberi perlakuan ekstrak.

HASIL PENELITIAN

Hasil randemen yang dihasilkan pada proses ekstraksi sebesar 3,96%. Persyaratan rendemen ekstrak kental yakni bobotnya melebihi 10%.⁷ Sehingga bisa dinyatakan bahwasanya hasil randemen memenuhi syarat.

Hasil Skrinning Fitokimia flavonoid dan fenol dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Daun *Z. zerumbet*

Uji fitokimia	Reagen	Perubahan Warna		Kesimpulan
		Sebelum	Sesudah	
Fenol	FeCl ₃	Hijau	Hijau kebiruan	+
Flavonoid	Mg dan HCl pekat	Hijau	Kuning	+

Hasil penetapan kadar ekstrak daun lempuyang gajah dilakukan replikasi 3 kali memaparkan bahwasanya skor rerata kandungan flavonoid total pada sampel ekstrak yaitu 57.97 ± 0,09 mg/g EQ.

Penentuan kadar senyawa fenolik memakai 3 replikasi melalui pemakaian metode spektrofotometer UV-Vis. Kandungan fenolik keseluruhan ekstrak etanol daun lempuyang gajah menunjukkan hasil yaitu 27,52 ± 0,02 mgGAE /g.

Pengujian antibakteri memakai metode difusi cakram dan media MHA setelah itu dijalankan peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil zona bening diukur memakai jangka sorong

Tabel 3. Luas Daerah Hambat Ekstrak Daun Lempuyang Gajah Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Diameter zona hambatan (mm)			Rata-rata $\pm$ SD (mm)
	1	2	3	
40%	8	8,3	8,6	8,3 $\pm$ 0.245
60%	11	11,2	11,6	11,3 $\pm$ 0.249
80%	13,1	13,5	13,8	13,5 $\pm$ 0.286

PEMBAHASAN

Nilai Randemen Ekstrak Daun *Z. zerumbet* dengan Metode *Ultrasound-assisted extraction* (UAE)

Hasil randemen yang dihasilkan pada proses ekstraksi sebesar 3,96%. Besar kecilnya hasil rendemen yang diperoleh dipengaruhi oleh keefektifan dalam proses ekstraksi. Perbedaan nilai rendemen total dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, makin lama durasi ekstraksi maka rendemen yang diperoleh makin tinggi. Waktu ekstraksi yang lebih panjang mengakibatkan kontak diantara bahan bersama pelarut menjadi lebih lama, yang selanjutnya mengakibatkan peningkatan titik jenuh larutan.¹⁴

Skrining Fitokimia

Pengujian fitokimia dijalankan guna memahami kadar metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun *Z. zerumbet* hingga bisa dipahami senyawa yang bisa dijadikan obat. Dalam pemeriksaan fitokimia berikut dijalankan pengujian flavonoid dan fenol.

Pengujian kualitatif guna memahami keberadaan flavonoid dalam sampel ekstrak etanol daun sirsak yang diberikan reaksi logam magnesium dan larutan HCl pekat hingga dihasilkan warna kuning jingga. Tambahan HCl dan logam magnesium dimaksudkan guna mereduksi cincin benzopyrone yang ada pada struktur flavonoid hingga berubah warna kuning-jingga. Tambahan HCl menimbulkan adanya reaksi redoks diantara logam magnesium selaku zat pereduksi dan senyawa flavonoid. Hasil pemeriksaan fitokimia ekstrak daun *Z. zerumbet* bisa dicermati dalam **Tabel 2**.

Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenol

Pengujian kadar flavonoid total pada ekstrak daun lempuyang gajah menggunakan panjang gelombang 427,8 nm. Kadar total flavonoid dihitung dengan menggunakan

persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi kuersetin yang telah diukur. Rumus perhitungan tersebut berdasarkan hukum Lambert-Beer yang menunjukkan hubungan lurus antara absorbansi dan kadar analit.²⁶ Penggunaan kuersetin sebagai larutan standar karena memiliki senyawa yang paling luas penyebarannya dalam tumbuhan dan juga merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang dapat bereaksi dengan $AlCl_3$ membentuk kompleks. Kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid.²⁶

Dapat dilihat bahwasanya hasil riset ekstrak etanol daun lempuyang gajah positif berisikan flavonoid. Hal tersebut nampak dari hasil analisa dengan metode spektrofotometer UV-Vis dengan 3 kali replikasi. Dari hasil penelitian menunjukan bahwa nilai rerata kandungan flavonoid total dalam sampel ekstrak etanol daun lempuyang gajah yakni $57.97 \pm 0,09$ mg/g EQ. Kandungan flavonoid yang berbeda bisa terpengaruh oleh ketinggian dan tanah.¹⁵

Penentuan kadar total fenol menggunakan metode *Folin-ciocalteu*. Fosfomolibdat fosfotungstat (berwarna kuning) dengan pereaksi *Folin-ciocalteu* yang direduksi oleh senyawa fenol menjadi molibdenum yang akan menjadi warna biru.²⁸ Senyawa fenolik direaksikan dengan reagen dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton dengan senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Penggunaan Na_2CO_3 akan memberikan kondisi basa, warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk. Sehingga, menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoly (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi kompleks molybdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat. Metode tersebut dipilih karena mempunyai keunggulan yaitu sederhana, cepat serta minim gangguan dari matrik yang ada pada sampel karena mengabsorpsi kromofor dengan panjang gelombang tinggi.²⁸

Kandungan total fenolik ditentukan melalui pemakaian spektrofotometri. Lantaran hubungan diantara serapan dan panjang gelombang, panjang gelombangnya ialah 780 nm. Menurut penelitian (Novita dkk.,2022) bahwa kandungan total fenolik pada tumbuhan dinyatakan dalam bentuk satuan GAE (gallic acid

equivalent) yang dimana jumlah kesetaraan milligram asam. Kandungan total fenolik ditentukan melalui pemakaian spektrofotometri. Lantaran hubungan diantara serapan dan panjang gelombang, panjang gelombangnya ialah 780 nm. Penetapan kadar senyawa fenolik menggunakan 3 replikasi melalui pemakaian metode spektrofotometer UV-Vis. Kandungan fenolik total ekstrak etanol daun lempuyang gajah menunjukkan hasil yaitu $27,52 \pm 0,02$ mgGAE / g. Satu diantara aspek yang berdampak pada perbedaan kandungan total fenolik dalam ekstrak ialah aspek lingkungan. Perbedaan ketinggian tempat, kadar unsur hara, sinar matahari tempat tanaman tumbuh dan kelembaban udara berdampak pada senyawa metabolik sekunder yang terdapat dalam tanaman.

Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan data pada **Tabel 3.** bahwa luas daya hambat terbesar dalam ekstrak etanol daun lempuyang gajah yakni kadar 80% pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Dalam **Tabel 3.** Bisa dicermati hasil pengujian kegiatan antibakteri ekstrak etanol daun lempuyang gajah menggunakan bakteri *S. aureus* dengan hasil yang didapatkan diameter rerata di zona hambat dalam kadar ekstrak 40%, 60%, 80% berturut-turut 8,3 mm; 11,3 mm dan 13,5 mm. Hasil rata-rata diameter tersebut berkisar pada rentang <10mm yang termasuk dalam kategori zona hambat lemah, 10-15mm sehingga dapat dikategorikan memiliki zona hambat yang sedang.

Bila diameter penghalang yang terbentuk 6 mm atau lebih, maka efek penghambatan ekstrak dinyatakan antimikroba.¹⁸ Zona hambat dihasilkan dari kadar terkecil 20% sampai kadar terbesar 100%. Kadar ekstrak yang dipakai ialah aspek yang berdampak pada ukuran zona hambat yang dihasilkan di sekitar lubang berisi ekstrak. Besarnya diameter zona hambat memperlihatkan kekuatan daya hambat perkembangan senyawa bioaktif yang terkandung pada daun.

Berdasarkan hasil penelitian lain, rimpang dan daun lempuyang gajah mempunyai perbedaan yaitu pada metode ekstraksi yang dimana pada rimpang *Z. zerumbet* menggunakan ekstraksi maserasi sedangkan pada penelitian ini memakai metode ekstraksi UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*). Namun, pelarut yang digunakan pada ekstraksi sama yaitu pelarut

etanol. Rimpang *Z. zerumbet* mengandung metabolit sekunder seperti senyawa polifenol. Prosedur senyawa polifenol menjadi zat antibakteri ialah melalui menembus dan merusak membran sel. Sedangkan, pada daun mempunyai kandungan seperti flavonoid dan fenol. Mekanisme kerja flavonoid yaitu menghambat fungsi membran sel²⁴. Prosedur kerja flavonoid ialah melalui mendenaturasi protein dinding sel bakteri, hingga dindingnya rusak.²⁵

DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) ialah pelarut yang dipakai guna melarutkan sampel uji, hingga DMSO dipakai menjadi kontrol negatif. Kontrol negatif berikut dimaksudkan guna memastikan bahwasanya pelarut tidak mempunyai kegiatan antimikroba, dan zona hambat yang diperoleh disebabkan oleh zat uji dan bukan pelarut. DMSO ialah pelarut aprotik polar dan memiliki titik didih tinggi, hingga menguap pelan-pelan dalam tekanan atmosfer normal. Sebagai larutan tidak berwarna yang bisa membuat senyawa dengan polar maupun non polar dapat larut. Ini mengandung berbagai macam pelarut organik sebagaimana air dan tidak berpengaruh pada kegiatan biologis mikroorganisme DMSO.¹⁹

Makin tinggi kadar ekstrak maka makin banyak bahan aktif yang dikandungnya sehingga makin tinggi daya antibakterinya, sebaliknya makin rendah kadar ekstrak maka makin sedikit bahan aktif yang dikandungnya hingga daya antibakterinya makin rendah.²⁰ Aspek lainnya yang berdampak pada pembentukan zona hambat diantaranya kerentanan perkembangan antimikroba, reaksi bahan aktif dengan suhu, media, serta ketebalan inkubasi.

Penghambatan bakteri disebabkan oleh senyawa antimikroba yang menembus sel bakteri dan mengganggu proses ekstraseluler. Efek antibakteri ekstrak tumbuhan seringkali dikaitkan terhadap senyawa fenolik. Flavonoid ialah turunan dari senyawa fenolik. Flavonoid mempunyai efek antibakteri lantaran kapabilitasnya berikatan menggunakan protein ekstraseluler maupun dinding sel pada bakteri.²¹ Aktivitas biologis senyawa flavonoid pada bakteri disebabkan oleh rusaknya membran sel bakteri yang tersusun dari asam amino maupun pada lipid dapat berreaksi bersama dengan gugus alkohol dari senyawa flavonoid hingga dapat merusak membran bagian sel yang

memungkinkan berpenetrasi memasuki inti sel bakterinya.²²

Hasil data uji kegiatan antibakteri ekstrak etanol daun *Z. zerumbet* pada bakteri *Staphylococcus aureus* dijalankan analisis statistik memakai IMB SPSS statistic. Analisis statistik pertama yang dijalankan yakni pengujian normalitas data untuk diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* memakai data *Shapiro-Wilk normality test* diperoleh skor $p > 0,05$, dimana hasil tersebut menunjukkan bahwasanya zona hambat yang diperoleh baik itu pada bakteri *S. aureus* telah terdistribusi normal.

Berikutnya dijalankan analisis statistik pengujian homogenitas. Bersumber pengujian homogenitas data yang didapatkan pada pengujian bakteri *S. aureus* diperoleh signifikansi ($p > 0,05$) hingga data yang dihasilkan homogen. Sesudah dijalankan pengujian normalitas dan homogenitas berikutnya dijalankan uji *One Way ANOVA*. Melalui uji tersebut didapat skor nilai signifikansi yaitu 0,000 ($p < 0,05$) sampai hasil pengujian kegiatan antibakteri ekstrak etanol daun *Z. zerumbet* pada bakteri *Staphylococcus aureus* dari tiap kelompok uji berbeda secara signifikan

Pada penelitian ini semua perlakuan setiap konsentrasi berbeda secara signifikan dan bermakna baik itu pada bakteri *Staphylococcus aureus* hal ini diperlihatkan melalui tanda (*) di tiap perbandingan perlakuan yang diberikan pada tiap kelompok dapat dilihat pada data *post hoc tests tukey LSD* pada bagian *mean difference*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil data dan pembahasan dalam riset yang sudah dijalankan bisa dibuat simpulan bahwasanya hasil riset memperlihatkan daun *Z. zerumbet* pada berbagai konsentrasi mempunyai aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi ekstrak 80% menunjukkan zona hambat yang kuat yakni 13,5 mm. Ada perbedaan yang bermakna antara luas daerah zona hambat perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing kadar 40%; 60% serta 80%.

SARAN

Peneliti menyarankan beberapa hal untuk kedepannya dapat menunjang penelitian selanjutnya.

1. Berdasarkan penelitian yang telah dikukan perlu diperhatikan terkait konsentrasi pada masing-masing ekstrak agar mendapatkan zona hambat yang lebih baik
2. Penelitian terhadap ekstrak daun *Z. zerumbet* ini diharapkan dapat dilanjutkan dengan mengujikannya pada jenis bakteri lain

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada IOM (Ikatan Orang Tua Mahasiswa) FK UNISMA yang sudah memberi bantuan penelitian secara finansial, kepada Rio Risandiansyah, S.Ked., MP.,Ph.D selaku reviewer.

DAFTAR PUSTAKA

1. Savitri, N. H., Indistuti, D. N., & Wahyunitasari, M. R. (2019). Journal of Vocational Health Studies Against *Streptococcus Pyogenes* and *Pseudomonas*. *Journal of Vocational Health Studies*, 03, 72–77.
2. Utomo, El Al. (2018). Antibacterial Activity Test Of The C-4-Methoxyphenylcalix Resorcinarene Compound Modified By Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Against *Staphylococcus Aureus* And *Escherichia Coli Bacteria*. *Jkpk (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 3(3), 201.
3. Rismawati, R., Budiyo, B., & Suhartono, S. (2016). Hubungan Variasi Iklim dengan Kejadian Pneumonia pada Balita di Kota Semarang Tahun 2011-2015 (Studi Kasus di Wilayah Kerja Puskesmas Bandarharjo). *Jurnal Kesehatan Masyarakat (Undip)*, 4(5), 160-169.
4. Bramantono, B. E. R., Marfiani, E., Kurniati, N. D., Arifijanto, M. V., & Jearanaiwitayakul, T. (2021) 'The Bacterial Pneumonia Characteristics based on Climate and Meteorological Parameters in Indonesia, the Tropical Country: A Preliminary Study', *Biomolecular and Health Science Journal*, 4(1), p. 15.
5. Siddiqui, A.H. and Koirala, J., 2018. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *StatPearls Publishing*. Treasure Island (FL).

6. Utami E, K. (2011). Antibiotika, Resistensi Dan Rasionalitas Terapi. *El-Hayah*, 1(4), 191-198.
7. Negara K. S. 2014. Analisis Implementasi Kebijakan Penggunaan Antibiotika Rasional Untuk Mencegah Resistensi Antibiotika di RSUP Sanglah Denpasar. Studi Kasus Infeksi Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Administrasi Kebijakan Kesehatan*: 1(1), 42-50
8. Kader G, Nikkon F, Rashid MA, Yeasmin T. Antimicrobial activities of the rhizome extract of *Zingiber zerumbet* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014. 409-412
9. Rahayu ID, Widodo W, Prihartini I, Winaya (2019) A. Antibacterial activity of ethanolic extracts from *Zingiber zerumbet* rhizome against *Salmonella* spp. *Biodiversitas*, 20, 1.3322-3327
10. Ayu FR, Haris MN, Yayuk PR, Rafita Y. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber Zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) Terhadap *Propionibacterium Acnes* Dan *Escherichia Coli*. *Journal of Health and Medical Science Volume 2*, Nomor 2, April 2023
11. Misna dan Khusnul, D. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Galenika Journal of Pharmacy*. 2(2):138-144
12. Rosmania dan Fitri Y. 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. 22(2):76-86.
13. Pratiwi. R.S.,Tjiptasurasa., Retno W. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) Terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. *Pharmacy*. 8(3):1-10.
14. Handayani, H., Sriherfyna, F. H., & Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), pp. 262–272.
15. Wardani, A. D. (2022). Validasi Metode Dan Penentuan Kadar Alkaloid Total Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona muricata*L.).Secara.Spektrofotometri.,*Jurnal Kefarmasian Akfarindo*.,Vo. 8.,No. 1
16. Ukieyanna, Elsha, 2012, Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth). *Jurnal Ilmiah Sains*., Volume 13 Nomor 1
17. Alfian, R., dan Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1): 73-80
18. Harborne, J.B. (1987). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Terbitan Kedua. Bandung: Penerbit ITB. Halaman 47-102 & 152-153.
19. Pakekong, E. D., Homenta, H., & Mintjelungan, C. N. (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Pharmacon*.,Vol. 5 No. 1
20. Effendy, L. (2013). Potensi Antijamur Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol. 2(1): 1-10.
21. Muin, R. (2017). "Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus*". *Equatorial Chemistry Journal*.,Volume 1, Nomor 1
22. Mardiyarningsih, A., & Aini, R. (2014). "Pengembangan Potensi Ekstrak Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Sebagai Agen Antibakteri". *Journal Pharmacia*. Vol. 4., No 2
23. Yudani, T. 2012."Uji Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Pare (*Momordica charantia*) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro". *Jurnal Bios Logos*., Vol. 13, No. 2

24. Putranti.,Rika 2013. "Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut".*Journal Chemistry*. Volume 16.,No 9
25. Rijayanti, R. K., 2014, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro". *Journal article.,Untan Medical Faculty Student Journal*. Vol. 1, no. 1
26. Mhaske, M., Samad, B. N., Jawade, R., Bhansali, A., 2012, Chemical Agents in Control of Dental Plaque in Dentistry: An Overview of Current Knowledge and Future Challenges, *Pelagia Research Library*, 3 (1), 268- 272
27. Kelly, S. G. Quersetin. Alternative Medicine Review. *Journal volume 16*, Nomor 2.
28. Novita DW., Khoirul H.,Yoni B., (2022) Pengaruh Variasi Metode Terhadap Berat Rendemen dan Total Kadar Fenol Daun Sereh (*Cymbogon citratus*). *International Journal of Drug Delivery Technology*
29. Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Heredia, J. B. Cisneros-Zevallos, L. & Jacobo-Velázquez, D. A. (2013). The Folin-Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, 5(21), 5990-5999
30. Wachidah, L.N. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Serta Penentuan Kandungan Fenolat Total Dari Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). *Jurnal Ilmu Pertanian*. Volume 4 No. 2