

Antimicrobial activities of ethanol extract of Wualae (*Etilingera elatior* (JACK) R.M. Smith)

Wahyuni, Fadhliyah Malik, Andryani Ningsih, Wa Ode Sitti Zubaydah, Sahidin
Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo

Artikel info

Diterima : 06 April 2018
Direvisi : 10 Mei 2018
Disetujui : 17 Juni 2018

Keyword

Etilingera elatior (Jack) R.M. Smith
Ethanol extract
Antibacterial

Abstract

Wualae (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith) belonging to Zingiberaceae that spread in South East Sulawesi, empirically used as staple and treatment. The aim of this research to determine the antimicrobial potential of ethanol extract fruit of *E. elatior* against gram positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Bacillus subtilis* FNCC 0060), and gram negative (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Salmonella enterica* ATCC 14028) using cup-plate method. The antimicrobial activity based on the diameter of inhibition zone. The result shows that extract more potential to inhibit gram positive than gram negative while the highest inhibition illustrate by concentration of 20 mg/mL (inhibition zone= 5 mm). In conclusion, the extract of *E. elatior* no potent as antimicrobial candidate (category= weak).

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Wualae (*Etilingera elatior* (JACK) R.M. Smith)

Kata kunci

Etilingera elatior (Jack) R.M. Smith
Ekstrak etanol
Antibakteri

ABSTRAK

Wualae (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith) adalah salah satu tumbuhan dari genus *Zingiberaceae* yang banyak tersebar di Sulawesi Tenggara yang secara empiris telah digunakan sebagai bahan pangan dan pengobatan tradisional. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah *E. elatior* terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* FNCC 0060, dan bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enterica* ATCC 14028 menggunakan metode *Cup-plate technique* dengan pengukuran diameter daya hambat (DDH). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak lebih aktif pada bakteri gram positif dibandingkan gram negatif. Penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi 20 mg/mL dengan nilai DDH 5 mm. sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah *E. elatior* memiliki aktivitas antibakteri dengan DDH kategori lemah.

Koresponden author

Wahyuni
Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo
Email : wahyuni@uho.ac.id

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan keadaan masuknya mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan jamur ke dalam tubuh dan menyebabkan penyakit (Sugiharti *et al.*, 2016). Infeksi bakteri dapat menimbulkan beberapa penyakit seperti diare yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*, karies gigi yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* dan infeksi kulit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Salah satu penanganan terhadap infeksi yaitu dengan pemberian antibiotik. Antibiotik adalah suatu obat yang dapat membunuh bakteri dan mencegah perkembangan bakteri. Antibiotik dapat ditemukan dalam berbagai sediaan, dan penggunaannya dapat melalui jalur topikal, oral, maupun intravena. Banyaknya jenis pembagian, klasifikasi, pola kepekaan kuman, dan penemuan antibiotika baru sering kali menyulitkan klinisi dalam menentukan pilihan antibiotika yang tepat ketika menangani suatu kasus penyakit. Hal ini juga merupakan salah satu faktor pemicu terjadinya resistensi (Zaman *et al.*, 2017). Resistensi didefinisikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemis dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya. Penyebab utama resistensi antibiotika adalah penggunaannya yang meluas dan irasional. Resistensi mikroba terhadap antibiotik berkembang jauh lebih cepat daripada penelitian dan penemuan antibiotik baru (Utami, 2011). Salah satu alternatif untuk menghindari resistensi antibiotik yaitu dengan penggunaan bahan alam.

Penggunaan bahan alam, baik sebagai obat maupun tujuan lain cenderung meningkat. Penggunaan tanaman obat atau obat tradisional relatif lebih aman dibandingkan obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat modern. Tanaman obat merupakan sumber utama ditemukannya senyawa kimia baru yang dapat digunakan dalam pengobatan serta memiliki efek terapeutik. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mencari tanaman obat yang dapat dimanfaatkan untuk penyembuhan berbagai jenis penyakit yang disebabkan infeksi (Ningsih, 2014).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk penyakit infeksi adalah tanaman *kecombrang* atau lebih dikenal di Sulawesi Tenggara dengan nama *wualae* (*Etilingera elatior*). *E. elatior* merupakan tumbuhan yang tersebar cukup luas di Indonesia, merupakan tumbuhan multiguna, dapat digunakan mulai dari rimpang hingga bunga. Secara tradisional bunga dan buah *E. elatior* dimanfaatkan sebagai penambah cita rasa masakan seperti urab dan pecel. Daunnya dapat dimasak sebagai sayur asam. Sedangkan batangnya digunakan pada beberapa jenis masakan yang mengandung daging (Ahmad *et al.*, 2015). Bunga dari tanaman ini bisa digunakan sebagai bahan kosmetik alami, bunganya dipakai untuk campuran cairan pencuci rambut dan daun serta rimpangnya dipakai untuk bahan campuran bedak oleh penduduk lokal (Sukandar *et al.*, 2010).

Kandungan fitokimia bunga, batang, rimpang, buah dan daun *E. elatior* antara lain senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenol, flavonoid, triterpenoid, steroid,

dan glikosida yang berperan aktif sebagai antioksidan maupun antilarvasida. Buah dan daun merupakan salah satu komponen yang terdapat pada tanaman *E. elatior* yang memiliki kandungan fenolik di dalamnya (Ahmad *et al.*, 2015).

E. elatior memiliki potensi sebagai antibakteri. Hasil penelitian oleh Sukandar dkk. (2010), ekstrak air bunga *E. elatior* bersifat antibakteri terhadap *E. coli* (zona hambat 4,8 mm/60%) dan *S. aureus* (zona hambat 6,87 mm/20%).

METODE PENELITIAN

Bahan penelitian

DMSO, NaCl 0,9 % (Otsuka®), Pereaksi Dragendorf & Lieberman-Buchard, HCl, Mg, FeCl₃, Nutrient Agar (Merck®), Nutrient Broth (Merck®), Potato Dextrose Agar (Merck®), Potato Dextrose Broth (Merck®), Kloramfenikol, Ketokonazol, Bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* FNCC 0060, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. enterica* ATCC 14028.

Pengambilan dan pengumpulan sampel

Sampel buah *wualae* dikumpulkan di Desa Sambeani, Kecamatan Abuki, Kabupaten Konawe di Provinsi Sulawesi Tenggara. Sampel dicuci dengan air sampai bersih dan dikeringkan. Setelah dikeringkan, dihaluskan menjadi serbuk simplisia.

Ekstraksi sampel

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Serbuk buah dimaserasi dalam wadah tertutup selama 3 x 24 jam menggunakan pelarut etanol. Pemisahan residu dan filtrat dilakukan setiap 1 x 24 jam diiringi penggantian pelarut yang sama sehingga diperoleh filtrat I, II dan III. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan Rotary Vacuum Evaporator (Buchi®) pada suhu 50oC hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ditimbang dan diperoleh bobotnya.

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi agar menggunakan teknik sumuran. Metode ini dilakukan dengan 2 tahapan, tahap ke-1 yaitu pembuatan dasar media uji dengan menggunakan media NA. Sebanyak 15 mL media NA steril dalam keadaan cair dituangkan ke dalam cawan Petri steril dan kemudian dibiarkan selama 15 menit hingga menjadi padat. Setelah media NA memadat kemudian diletakkan 6 buah alat pencadang yang berfungsi sebagai cetakan lubang atau sumuran. Tahap ke-2 yaitu pembuatan media pembenihan dengan cara, mencampur sebanyak 250 µL suspensi bakteri ke dalam 20 mL media pembenihan di dalam gelas ukur yang dicairkan, kemudian dihomogenkan dengan vortex (Stuart®) agar bakteri tersebar merata. Media pembenihan tersebut kemudian dituangkan ke dalam cawan Petri di sekeliling alat pencadang yang telah disiapkan sebelumnya kemudian dibiarkan menjadi padat. Setelah media pembenihan memadat, alat pencadang kemudian dicabut menggunakan pinset steril hingga terbentuk lubang (sumuran).

Tiap sumuran ditetaskan sebanyak 30 µL ekstrak buah *E. elatior* dengan konsentrasi 2,5; 5,0; 10,0; dan 20 mg/mL; 30 µL kloramfenikol (0,1 mg/mL), dan 30 µL DMSO 10%. Cawan petri yang berisi senyawa

Tabel 1. Aktifitas antibakteri ekstrak etanol buah *E. elatior* yang dinyatakan dengan nilai DDH terhadap 3 jenis bakteri uji

Jenis bakteri	Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	DDH (mm)	Kategori
<i>B. subtilis</i>	Kloramfenikol	0,1	18	Kuat
	DMSO 10%	0	0	Tidak aktif
	Ekstrak etanol buah <i>E. elatior</i>	20	5	Lemah
		10	2	Lemah
		5	0	Tidak aktif
		2,5	0	Tidak aktif
<i>S. aureus</i>	Kloramfenikol	0,1	18	Kuat
	DMSO 10%	0	0	Tidak aktif
	Ekstrak etanol buah <i>E. elatior</i>	20	4	Lemah
		10	1	Lemah
		5	0	Tidak aktif
		2,5	0	Tidak aktif
<i>P. aeruginosa</i>	Kloramfenikol	0,1	18	Kuat
	DMSO 10%	0	0	Tidak aktif
	Ekstrak etanol buah <i>E. elatior</i>	20	5	Lemah
		10	3	Lemah
		5	1	Lemah
		2,5	0	Tidak aktif
<i>S. enterica</i>	Kloramfenikol	0,1	20	Kuat
	DMSO 10%	0	0	Tidak aktif
	Ekstrak etanol buah <i>E. elatior</i>	20	5	Lemah
		10	3	Lemah
		5	0	Tidak aktif
		2,5	0	Tidak aktif

uji dimasukkan ke dalam lemari pendingin dengan suhu 10°C selama 30 menit, kemudian dengan proses inkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji daya antibakteri didasarkan pada pengukuran Diameter Daerah Hambat (DDH) yang terbentuk di sekeliling lubang sumuran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian aktivitas anti mikroba pada buah *E. elatior* dilakukan terhadap 4 bakteri. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* FNCC 0060 yang merupakan bakteri gram positif, dan *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. enterica* ATCC 14028 yang merupakan bakteri gram negatif. Aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar dengan teknik sumuran (*cup-plate technique*). Metode difusi dipilih karena pada metode ini ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri dapat terlihat dengan jelas, sehingga dapat memudahkan dalam pengamatan terhadap bakteri uji. Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri, perlu dilakukan peremajaan bakteri terlebih dahulu untuk memaksimalkan hasil uji aktivitas dengan cara mengganti media hidup bakteri. Penggantian media tempat hidup bakteri juga berguna untuk memperbaharui nutrisi bakteri sehingga

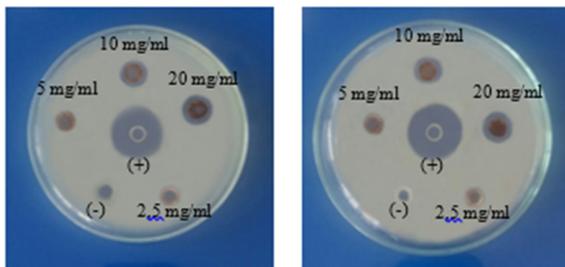
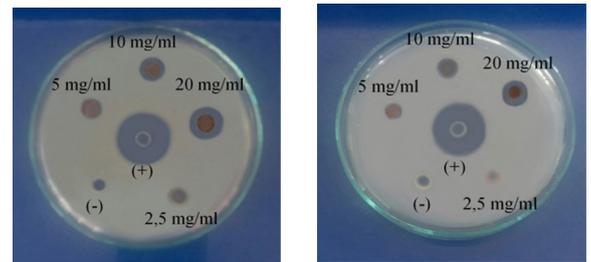
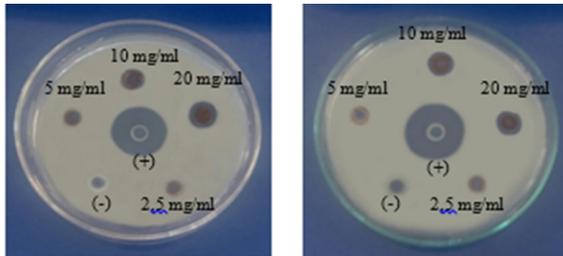
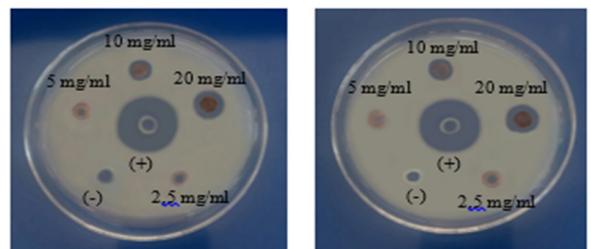
mempercepat adaptasi bakteri dan mempersiapkan bakteri pada kondisi yang eksponensial. Bakteri yang hidup pada kondisi tersebut mampu menyintesis enzim dan mengatur aktivitasnya sehingga mampu tumbuh dalam kondisi baru.

Hasil pengujian antibakteri pada bakteri *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *S. enterica*, menunjukkan hasil bahwa perubahan konsentrasi mempengaruhi diameter daya hambat yang terbentuk, semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi daya hambatnya.

Ekstrak menunjukkan aktivitas terhadap bakteri *B. subtilis* pada konsentrasi 20 mg/mL (DDH= 5 mm) dan 10 mg/mL (DDH= 2 mm) yang termasuk kategori lemah, sedangkan pada konsentrasi 5,0 dan 2,5 mg/mL tidak menunjukkan aktivitas dengan tidak terbentuknya DDH pada sekitar sumuran (Tabel 1).

Aktivitas ekstrak pada bakteri *S. aureus* ditunjukkan pada konsentrasi 20 mg/mL (DDH= 4 mm) dan 10 mg/mL (DDH= 1 mm) yang termasuk kategori lemah, sedangkan konsentrasi 5 mg/mL dan 2,5 mg/mL tidak menunjukkan aktivitas dengan tidak terbentuknya DDH pada sekitar sumuran (Tabel 1).

Aktivitas ekstrak pada bakteri *P. aeruginosa* ditunjukkan pada konsentrasi 20 mg/mL (DDH= 5 mm), 10 mg/mL (DDH= 3 mm) dan 5 mg/mL (DDH= 1 mm)

B. subtilis*P. aeruginosa**S. aureus**S. enterica*

Gambar 1. Zona hambat ekstrak etanol buah *E. elatior* dibandingkan dengan kontrol negatif DMSO 10% dan kontrol positif kloramfenikol terhadap 4 jenis bakteri *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *S. enterica*

yang termasuk kategori lemah, sedangkan konsentrasi 2,5 mg/mL tidak memiliki aktivitas (Tabel 1).

Aktivitas ekstrak pada bakteri *S. enterica* ditunjukkan pada konsentrasi 20 mg/mL nilai DDH: 5 mm dan konsentrasi 10 mg/mL nilai DDH: 3 mm yang termasuk kategori lemah, sedangkan pada konsentrasi 5 mg/mL dan 2,5 mg/mL tidak memiliki aktivitas (Tabel 1).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan ekstrak buah *E. elatior* pada bakteri gram positif relatif lebih besar daripada bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan perbedaan dalam komposisi dan struktur dinding sel antara bakteri gram negatif dan bakteri gram positif yang menyebabkan respon terhadap antibakteri juga akan berbeda-beda. Bakteri gram positif hanya memiliki satu lapisan dinding sel yaitu peptidoglikan yang tipis sedangkan struktur dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari tiga lapisan yaitu membran sitoplasma, membran luar, dan lapisan di antara keduanya yaitu lapisan tipis peptidoglikan. Membran luar sel terdiri dari lipopolisakarida, fosfolipid dan lipoprotein. Adanya lapisan yang tipis tersebut maka senyawa antimikroba dapat lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif dan menghambat pertumbuhannya. Bakteri gram negatif yang memiliki lapisan dinding sel yang tebal tersebut akan sulit ditembus, sehingga menghambat senyawa antimikroba masuk dan menghambat pertumbuhan bakteri (Mai-Prochnow *et al.*, 2016; Wada *et al.*, 2012).

Aktivitas antimikroba disebabkan karena komponen kimia yang terdapat pada ekstrak buah *E. elatior*. Komponen kimia yang terkandung pada buah seperti flavonoid, alkaloid, tanin dan terpenoid bekerja dan saling mendukung untuk menghambat mikroba. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel mikroba (Kumar dan Pandey, 2013; Pistelli dan Giorgi, 2012). Mekanisme alkaloid dalam

menghambat pertumbuhan mikroba adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Cushnie *et al.*, 2014). Senyawa terpenoid memiliki mekanisme kerja antimikroba dengan cara bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, sehingga membentuk ikatan polimer yang kuat yang mengakibatkan rusaknya porin (Kurekci *et al.*, 2013). Tanin mampu menghambat pertumbuhan mikroba dengan cara menginaktivasi adhesin mikroba, enzim, dan protein transport pada membran sel (Redondo *et al.*, 2014).

Berdasarkan data ini dapat disimpulkan bahwa etanol buah *E. elatior* lebih lemah dibandingkan dengan standar kloramfenikol yang digunakan. Hal ini dikarenakan ekstrak masih berupa ekstrak kasar yang memiliki banyak senyawa lain sehingga mempengaruhi kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan antibakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah *E. elatior* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* dan *S. enterica* dengan kategori lemah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima Kasih kepada Fakultas Farmasi UHO yang telah memberikan dukungan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad AR, Ratulangi SAD, Juwita J. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*Etligeria elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2015;2(1); 1-10
Cushnie TP, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing

- and antivirulence activities. *International journal of antimicrobial agents*. 2014;44(5); 377-386
- Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*. 2013;2013(Artikel ID 162750); 1-16
- Kurekci C, Padmanabha J, Bishop-Hurley SL, Hassan E, Al Jassim RAM, McSweeney CS. Antimicrobial activity of essential oils and five terpenoid compounds against *Campylobacter jejuni* in pure and mixed culture experiments. *International Journal of Food Microbiology*. 2013;166(3); 450-457
- Mai-Prochnow A, Clauson M, Hong J, Murphy AB. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Scientific reports*. 2016;6(Artikel ID 38610); 38610-38610
- Ningsih DR. Antibacterial activity cambodia leaf extract (*Plumeria alba* L.) to *Staphylococcus aureus* and identification of bioactive compound group of cambodia leaf extract. *Molekul*. 2014;9(2); 101-109
- Pistelli L, Giorgi I, 2012. Antimicrobial properties of flavonoids, in: Patra, AK (Ed.) *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 33-91
- Redondo LM, Chacana PA, Dominguez JE, Fernandez Miyakawa ME. Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. *Frontiers in Microbiology*. 2014;5(Artikel ID 118); 1-7
- Sugiharti RJ, Halimah I, Mahendra I, Sriyani M. Biodistribusi Radiofarmaka ^{99m}Tc-ketokenazol pada infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*. 2016;17(2); 71-82
- Sukandar D, Radiastuti N, Jayanegara I, Hudaya A. Karakterisasi senyawa aktif antibakteri ekstrak air bunga kecombrang (*Eclingera elatior*) sebagai bahan pangan fungsional. *Valensia*. 2010;2(1); 333-339
- Utami ER. Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Eel-Hayah journal of biology*. 2011;1(4); 191-198
- Wada A, Kono M, Kawauchi S, Takagi Y, Morikawa T, Funakoshi K. Rapid discrimination of gram-positive and gram-negative bacteria in liquid samples by using NaOH-sodium dodecyl sulfate solution and flow cytometry. *PloS one*. 2012;7(10); e47093
- Zaman SB, Hussain MA, Nye R, Mehta V, Mamun KT, Hossain N. A review on antibiotic resistance: Alarm bells are ringing. *Cureus*. 2017;9(6); e1403-e1403