

Karakterisasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Air Daun Kecombrang (*Etilingera elatior*)

Dede Sukandar¹, Nani Radiastuti², Ira Jayanegara³, Rina Ningtiyas²

¹) Program Studi Kimia dan ²) Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta,
Jalan Ir. H. Juanda No 95 Ciputat 15412 Indonesia

³) Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, BPPT Jakarta
e-mail: d_sukandar@hotmail.com

Abstrak

Telah dilakukan penelitian mengenai pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak air daun kecombrang (*Etilingera elatior*) yang bertujuan memberikan bukti ilmiah keunggulan tanaman kecombrang sebagai bahan pangan fungsional. Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dan identifikasi komponen kimia dengan alat GCMS. Ekstrak air daun kecombrang bersifat antibakteri *E. Coli* (zona hambat 10 mm/100%), *S. Aureus* (zona hambat 8,663 mm/20%). Ekstrak air daun kecombrang memiliki komponen utama 2,3-butanadiol (tR=5,28, area=29,38, kemiripan 90 %) dan fenol (tR= 6,83,area=2,26, kemiripan 90 %).

Kata Kunci: kecombrang (*Etilingera elatior*), pangan fungsional dan antibakteri

Abstract

A research which antibacterial activity test from water extract of leaf kecombrang (*Etilingera Elatior*) to give erudite evidence excellence of crop kecombrang upon which the functional food. Examination of antibacterial with disk diffusion method and chemical component identified with GCMS instrument. Water extract of kecombrang leaf have the character of antibacterial *E. Coli* (zona of inhibition 10 mm, at concentration 100%), *S. Aureus* (zona of inhibition 8,663 mm, at concentration 20%). Water extract kecombrang leaf have component 2,3-butanadiol (tR=5,28, area=29,38, similarity at 90 %) and phenol (tR= 6,83,area=2,26, similarity at 90 %).

Keywords: kecombrang (*Etilingera Elatior*), food fungsional and antibacterial

1. PENDAHULUAN

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 722/Menkes/Per/IX/88, bahan pengawet makanan merupakan bahan tambahan makanan yang mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman atau penguraian lain terhadap makanan yang disebabkan oleh mikroorganisme (Fardiaz, 2002).

Efektivitas dari bahan pengawet ditentukan oleh konsentrasi, macam bahan pengawet, dan lingkungan bagi bahan pengawet itu ditambahkan. Umumnya semakin tinggi konsentrasi bahan pengawet yang diberikan semakin besar pula efektivitasnya, jika bahan pengawet tidak membahayakan bagi kesehatan (Supardi dan Sukanto, 1999). Sedangkan, menurut *Food and Drugs Administration* (FDA), keamanan suatu

pengawet makanan harus mempertimbangkan jumlah yang mungkin dikonsumsi dalam produk makanan atau jumlah zat yang akan terbentuk dalam makanan dari penggunaan pengawet, efek akumulasi dari pengawet dalam makanan dan potensi toksisitas yang dapat terjadi dari pengawet jika dicerna oleh manusia atau hewan termasuk potensi menyebabkan kanker (Andrew, 2006).

Dalam rangka menghambat proses kerusakan pangan digunakan bahan pengawet sintesis seperti formalin, asam benzoat, BHA (*Butylated Hydroxyanisole*), BHT (*Butylated Hidroxytoluene*) dan TBHQ (*Tertier Butylated Hydroxyanisole*) terutama untuk bahan makanan semi basah seperti tahu, mie, bakso, ikan, daging serta minyak/lemak (Tranggono, 1990).

Pada saat ini penggunaan bahan pengawet sintetis tidak direkomendasikan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) karena diduga dapat menimbulkan penyakit kanker (*carcinogen agent*). Karena itu perlu dicari alternatif lain yaitu bahan pengawet alami yang bersumber dari bahan alam. Bahan pengawet alami ini hampir terdapat pada semua tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan tersebar di seluruh tanah air (Barus, 2009).

Salah satunya adalah kecombrang (*Etilingera elatior*), yang merupakan tanaman rempah asli Indonesia termasuk keluarga tanaman *Zingiberaceae* (Gambar 1), yang



(a)



(b)

Gambar 1. Tanaman (a) dan bunga kecombrang (b)

2. METODE PENELITIAN

Umum. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi selama 3 x 24 jam. Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dan analisa komponen kimia dalam ekstrak air daun kecombrang menggunakan alat *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy*, GCMS.

Bahan. Bahan yang digunakan berupa biakan *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* yang diperoleh dari *culture collection* Lab Mikrobiologi Pusat Laboratorium Terpadu UIN Jakarta; medium pemeliharaan bakteri *Nutrient Agar* (NA, Pronadisa), *Nutrient Broth* (NB, Pronadisa), *Plate Count Agar* (PCA, Pronadisa); bahan kimia terdiri dari metanol dan antibiotik kloramfenikol serta bahan alam berupa daun kecombrang.

Ekstraksi. Sebanyak 500 gram sampel daun kecombrang kering dimaserasi dalam 1 liter pelarut akuades selama 3 x 24 jam. Hasil ekstraksi disaring, dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan selanjutnya

secara tradisional telah lama digunakan masyarakat sebagai salah satu jenis sayuran dan juga digunakan sebagai pengobat luka dan penghilang bau badan (Hidayat dan Hutapea, 1991).

Mengingat adanya potensi dari daun kecombrang (*E. elatior*) sebagai pengawet alami, maka perlu dilakukan penelitian terkait kemampuannya sebagai antibakteri terutama pada ekstrak airnya. Penekanan ekstrak air menjadi penting agar dapat diterapkan dalam pembuatan makanan sehari-hari maupun industri makanan.

dipergunakan pada pengujian antibakteri dan analisa komponen kimia.

Uji Antibakteri. Sebanyak 2,4 g NA ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml akuades, selanjutnya dipanaskan sehingga NA larut, dan dituang ke dalam beberapa tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml dan sisanya dituang ke dalam tabung Erlenmeyer 100 ml. Media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah media steril, dimiringkan dan dibekukan. Media dalam tabung Erlenmeyer yang sudah disterilisasi dituang ke dalam cawan petri steril untuk membuat agar plat.

Bakteri yang akan digunakan diremajakan sebanyak 3 biakan murni, 1 sebagai biakan stok dan 2 sebagai biakan kerja. Biakan tersebut ditumbuhkan pada agar miring NA selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Biakan yang telah tumbuh pada agar miring NA ditambahkan dengan 5 ml akuades steril. Pengerikan dilakukan menggunakan ose,

sehingga diperoleh suspensi spora, kemudian dikocok menggunakan vortex supaya homogen. Suspensi spora dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml steril.

Suspensi sel bakteri diencerkan sampai pengenceran 10^{-7} , kemudian disebar pada permukaan NA steril dalam cawan petri. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 7 hari. Cara menentukan jumlah mikroorganisme per ml suspensi dilakukan dengan membagi jumlah koloni terhitung dengan volume suspensi yang diinokulasi dan dibagi dengan pengenceran yang digunakan.

Medium agar (NA) sebanyak 10 ml dicairkan dalam penangas air, kemudian didinginkan sampai suhunya kurang lebih 40°C . 1 ml berbagai ekstrak berbagai konsentrasi dimasukkan ke medium agar NA steril, kemudian distirrer. 0,1 ml suspensi biakan bakteri (pengenceran 10^6) diteteskan ke dalam cawan petri steril. Medium agar dituangkan secara aseptik ke dalam setiap cawan petri yang sudah ditetesi suspensi biakan bakteri, diratakan dengan cara menggoyang dan dibiarkan mengeras. Biakan diinkubasi selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam pada suhu kamar, kemudian dilakukan perhitungan jumlah koloni.

Salah satu inokulum aktif bakteri uji sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambah 10 ml media NA steril suhu 40°C diratakan dengan cara diputar diatas meja sehingga tercampur inokulum dan media. Setelah itu, didiamkan sampai membeku dan dilubangi dengan diameter 5 mm dengan menggunakan pipet steril yang sudah dipotong bagian ujungnya. Lubang/sumur dibuat 3 dalam satu cawan sebagai perlakuan 3 kali ulangan. Salah satu konsentrasi minyak atsiri ditetesi ke lubang yang sudah dibuat sampai batas tinggi sumur yang dibuat. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. Hal yang sama dilakukan pada bakteri dan konsentrasi lainnya. Kontrol yang digunakan akuades steril. Antibiotik spektrum luas kloramfenicol akan dipakai sebagai pembanding.

Analisa GCMS. Karakterisasi ekstrak air bunga dan daun kecombrang dilakukan dengan menggunakan GCMS Agilent Agilent 19091S-436. menggunakan kolom polar HP-5MS 0.25

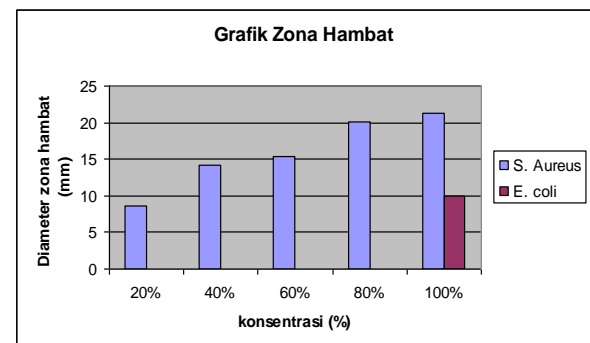
x 60 x 0.25 mm, suhu oven (70°C - 325°C), Interface (290°C), kontrol mode (split), tekanan (16.30 psi), total flow (40.0 ml/min), split ratio (50:1), split flow (49,3 ml/min), gas (He), gas saver (On), dan detektor (MSD).

Analisis Data. Semua perlakuan diulang tiga kali dari sampel yang berbeda dan akan diuji dengan analisis sidik ragam (ANOVA).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi 90 gram kecombrang (*Etlintera elatior*) kering dalam 1500 ml akuades dengan cara maserasi diperoleh 59 ml ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak tersebut digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri dan analisa GCMS.

Aktivitas antibakteri ekstrak air daun kecombrang diukur berdasarkan zona hambat, hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Zona hambat ekstrak air daun kecombrang

Hasil pengujian antibakteri ekstrak air daun kecombrang terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 20 %, 40 %, 60 %, 80 % dan 100 % menghasilkan zona hambat sebesar 8,663 mm, 14,223 mm, 15,33 mm, 20,08 mm, dan 21,36 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi daya hambatnya. Menurut Jenie dan Kuswanto (1994) bahwa keefektifan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan tergantung pada sifat mikroba uji, konsentrasi dan lamanya waktu kontak. Sifat biostatistik dapat meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi yang ditambahkan.

Ekstrak air daun kecombrang menghambat pertumbuhan *E. coli* hanya pada konsentrasi 100 % yaitu dengan zona hambat

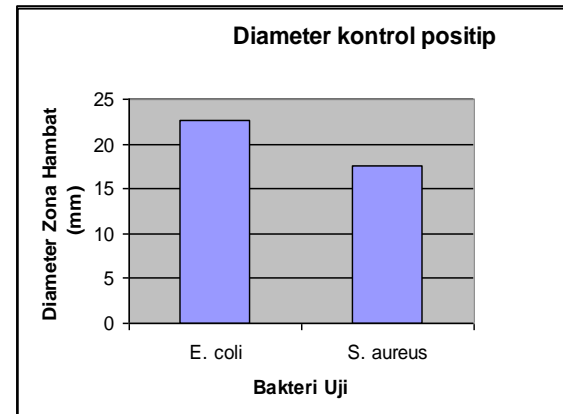
sebesar 10 mm. Hal ini disebabkan aktivitas antimikroba juga dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Air adalah pelarut yang cenderung polar, maka senyawa antibakteri yang terekstrak juga relatif polar. Kepolaran senyawa antibakteri inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif. Menurut Best (1999), molekul-molekul yang bersifat hidrofilik lebih mudah melewati lipopolisakarida dibandingkan dengan yang hidrofobik. Pada bakteri gram positif tidak ada lapisan lipopolisakarida, sehingga molekul senyawa antimikroba yang bersifat hidrofilik maupun yang hidrofobik dapat melewatinya.

Menurut Kanazama *et al.* (1995) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik-hidrofobik (HLB, *hydrophilic lipophilic balance*). Polaritas senyawa merupakan sifat fisik senyawa antimikroba yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa antimikroba larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba; tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik; sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik-hidrofobik untuk mencapai aktivitas yang optimal (Branen dan Davidson, 1993).

Berdasarkan analisa statistik menggunakan anova satu arah pada ekstrak air daun kecombrang terhadap *S. aureus* diperoleh hasil analisa, H0 diterima dan H1 ditolak, sehingga hipotesis yang diterima adalah tidak ada perbedaan yang nyata dan signifikan setiap perlakuan konsentrasi terhadap diameter zona hambat. Hal ini berarti diameter zona hambat dipengaruhi oleh perlakuan konsentrasi bukan oleh sebab lain.

Pada pengujian antibakteri ekstrak air daun kecombrang dengan menggunakan

metode difusi cakram menggunakan kontrol positif kloramfenikol (10 µg) diperoleh hasil yang dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

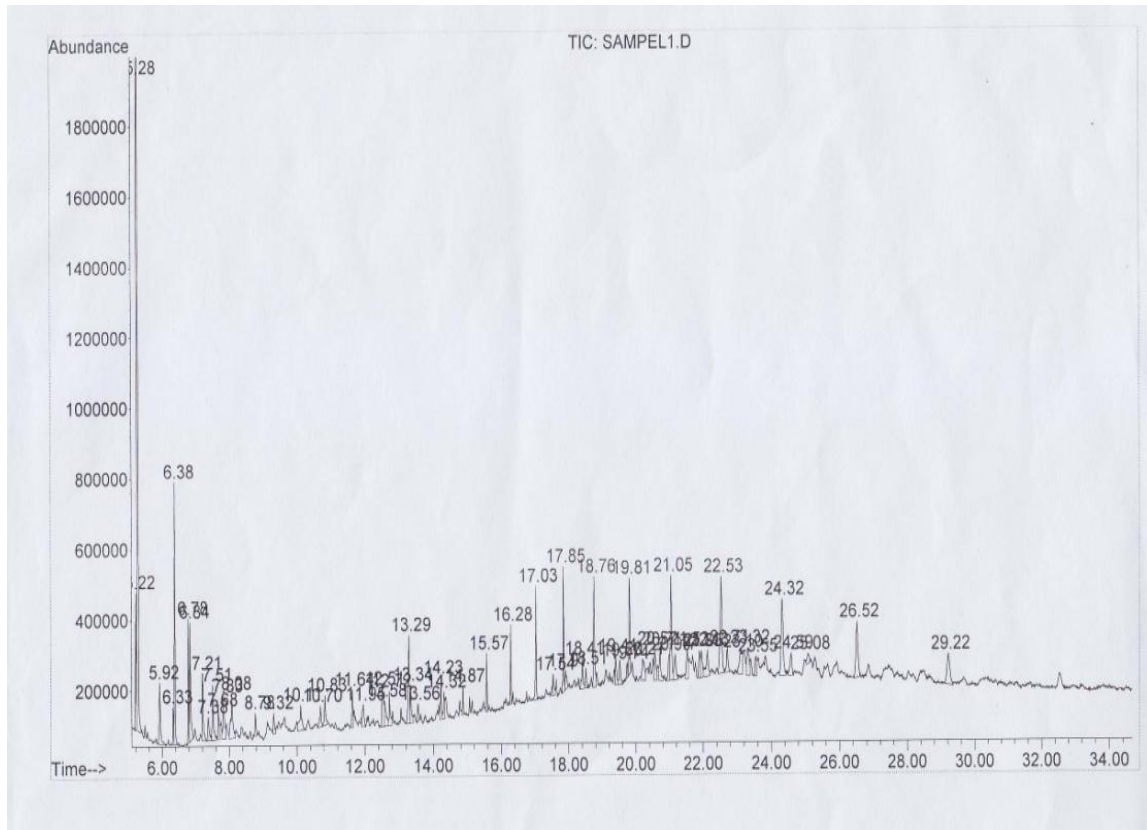


Gambar 3. Diameter zona hambat bakteri uji terhadap kloramfenikol

Berdasarkan data tersebut, diketahui bahwa kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki spektrum luas atau memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif pada 10 µg. Zona hambat kloramfenikol terhadap *S. aureus* dan *E. coli* sebesar 17,5 mm dan 22,66 mm. Dari hasil diketahui kalau kedua bakteri itu memiliki sifat sensitif terhadap kloramfenikol. Prescott dan Klein (2009) menuliskan bahwa kondisi bakteri terhadap kloramfenikol dibagi tiga yaitu yang memiliki diameter 12 mm termasuk resisten, 13-17 mm termasuk intermediet dan lebih dari 18 mm merupakan bakteri yang sensitif pada 30 µg.

Diameter zona hambat ekstrak air daun kecombrang konsentrasi 60% mendekati zona hambat kloramfenikol 10 µg, yaitu 15,33 mm. Namun pada *E. coli* zona hambat ekstrak air daun kecombrang sangat berbeda bila dibandingkan dengan zona hambat kloramfenikol.

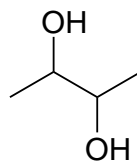
Hasil analisa GCMS ekstrak air daun kecombrang terlihat pada gambar berikut.



Gambar 4. Hasil analisa GCMS ekstrak air daun kecombrang

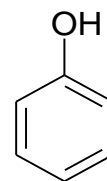
Berdasarkan hasil analisa GCMS, sedikitnya 5 golongan senyawa utama yang terkandung dalam ekstrak air daun kecombrang, yaitu alkana, alkohol, keton, amida dan fenol. Empat diantaranya memiliki

luas puncak dan kemiripan yang relative besa yaitu 2,3-butanadiol (**1**) pada waktu retensi 5,28, luas puncak 29,38 dan kemiripan 90 % dan fenol (**2**) pada waktu retensi 6,83, luas puncak 2,26 dan kemiripan 90 %.



2,3-butanadiol

(1)



Fenol

(2)

Gambar 5. Senyawa utama dalam ekstrak air daun kecombrang

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak air daun kecombrang bersifat antibakteri *E. Coli* (zona hambat 10 mm/100%), *S. Aureus* (zona hambat 8,663 mm/20%).
2. Ekstrak air daun kecombrang memiliki komponen utama 2,3-butanadiol (tR=5,28, area=29,38, kemiripan 90 %) dan fenol (tR=6,83, area=2,26, kemiripan 90 %).

Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi dan penentuan struktur senyawa aktif antibakteri menggunakan data spektroskopi UV-Vis, IR, dan NMR. Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengujian antibakteri menggunakan bakteri mulut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Ketua Lembaga Penelitian UIN Syarif Hidayatullah yang telah memberi bantuan dana penelitian BLU UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Ketua Pusat Laboratorium Terpadu (PLT) UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah memfasilitasi penelitian. Balai Tanaman Obat dan Aromatik- Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Kampus Penelitian Cimanggu, Bogor, Pusat Laboratorium Forensik POLRI Kebayoran Baru Jakarta Selatan, dan Laboratorium Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Jakarta..

DAFTAR PUSTAKA

1. Andrew. 2006. Pengawet Alami Pengganti Formalin Sudah ada Sejak Dulu. <http://www.andrew57.wordpress.com/2006/03/20/pengawet-alamipenggantiformalin-sudah-ada-sejak-dulu>. Diakses Rabu, 16 Juli 2008, pk 05:35 WIB.
2. Barus, P. 2009. *Pemanfaatan bahan pengawet dan antioksidan alami pada industri bahan makanan*. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Ilmu Kimia Analitik pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, diucapkan di hadapan Rapat

Terbuka Universitas Sumatera Utara. Universitas Sumatra Utara Medan.

3. Best, GK, 1999, *Antibacterial Chemotherapy*. yang diakses dari sumber <http://pharminto.com/publ/msb/newsdrugs.html>.
4. Branen A.L dan Davidson PM. 1993. *Antimicrobial in Food*. Marcel Dekker. New York.
5. Fardiaz, D. 2002. *Panduan Pengolahan Pangan yang Baik bagi Industri Rumah Tangga*. Jakar: Badan Pengawas Obat dan Makanan.
6. Hidayat dan Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Balai Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan RI.
7. Jenie, B.S.L. dan Kuswanto. 1994. Aktivitas antimikroba dari pigmen angkak yang diproduksi oleh *Monasns purpuracs* terhadap beberapa mikroba patogen dan perusak makanan. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Permi*, hal. 53-62.
8. Kanazama, AT. Ikeda T, Endo. 1995. A Novel approach to made of action on cationic biocides: morfological effect on antibacterial activity. *J Appl. Bacteriol* 78:55-60
9. Prescott, Harley dan Klein. 2005. *Microbiology Sixth Edition*. Mc Graw Hill Higher Education.
10. Supardi dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengelolaan dan Keamanan Pangan*. Bandung: ALUMNI.
11. Tranggono, 1990. *Bahan Tambahan Pangan (Food Additive)*. Pusat Antar Universitas. Pangan dan Gizi. UGM. Yogyakarta.