

Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dan Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*
(Antibacterial Activity Assay of Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) and Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Essential Oil Combination on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*)

Ashari Imam Sayuti, Evi Umayah Ulfa dan Endah Puspitasari
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: azhariimams@gmail.com

Abstract

Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) and Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) contain essential oils in their rhizome. Essential oils have antibacterial activity on Gram positive and Gram negative. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are normal flora bacteria causing infections. One way to prevent such infection is by using natural product as antibacterial agent. This research was aimed to determine the antibacterial activity of essential oils on the growth of *S. aureus* and *E. coli*. The method used was well diffusion method with six sampels. Sampels consisted of five essential oil combinations with comparison of 3:1, 1:1, 1:3, 1:0, and 0:1 and gentamicin 0.0092 mg/ml as positive control. The inhibition zone data were analyzed using the pearson and spearman correlation test. The results of this research showed that essential oils combination of 1:3 had the highest activity against the growth of both bacteria. Antibacterial activity of *S. Aureus* is higher than that of *E. coli*. As the conclusion, the combination of essential oils is effective to be used for infection therapy caused by Gram possitive bacteria.

Keywords: antibacterial activity, essential oils combination, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Abstrak

Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dan Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) mengandung minyak atsiri pada bagian rimpangnya. Minyak atsiri mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri flora normal yang dapat menyebabkan beberapa infeksi. Salah satu alternatif untuk pencegahan infeksi tersebut dengan menggunakan produk alami sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi kedua minyak atsiri tersebut dalam penghambatan pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran menggunakan enam sampel uji. Sampel uji terdiri dari lima kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, 1:0, dan 0:1 serta gentamisin 0.0092 mg/ml sebagai kontrol positif. Analisis data menggunakan uji korelasi pearson dan spearman. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi minyak atsiri 1:3 mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi terhadap kedua bakteri uji. Kombinasi ini mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan bakteri *E. coli*. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi minyak atsiri ini lebih efektif digunakan pada infeksi yang disebabkan bakteri Gram positif.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, kombinasi minyak atsiri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,

Pendahuluan

Minyak atsiri merupakan metabolit sekunder yang terkandung dalam bagian tanaman tertentu [1]. Minyak ini tersusun atas senyawa monoterpena dan seskuiterpena [2]. Minyak atsiri

lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus* [3] dan minyak atsiri bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan *Acillus cereus* [4].

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* merupakan bakteri flora normal yang menyebabkan beberapa penyakit infeksi dan diare [5]. Terapi infeksi yang digunakan adalah antibiotik, penggunaan antibiotik yang kurang rasional akan menimbulkan terjadinya beberapa toksisitas atau efek samping obat sehingga perawatan penderita menjadi lebih lama, biaya pengobatan menjadi lebih mahal dan dapat menurunkan kualitas pelayanan kesehatan [6].

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti ingin mengetahui potensi antibakteri kombinasi minyak atsiri rimpang lempuyang wangi dan bangle terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan untuk mencegah dan mengobati infeksi yang disebabkan aktivitas bakteri flora normal.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *the post test control only group design* yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penyulingan minyak atsiri dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian Universitas Jember. Simplisia rimpang lempuyang wangi berumur 12 bulan yang diperoleh dari Desa Ngantang Malang, sedangkan bangle berumur 11 sampai 12 bulan yang diperoleh dari desa Wates Kulonprogo Yogyakarta. *S. aureus* dan *E. coli* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia lempuyang wangi, simplisia bangle, media *Muler Hinton* (MH), *Nutrient Agar* (NA), akuades steril, NaCl 0,85% dan etanol 70%.

Penyulingan minyak atsiri dilakukan dengan memotong kecil-kecil simplisia rimpang lempuyang wangi (8,400 gram) dan bangle (1000 g), kemudian bahan dimasukkan ke dalam tabung destilasi yang sudah diisi air kurang lebih 7 liter. Selanjutnya dilakukan pemanasan selama 5 jam. Hasil minyak atsiri diambil dan dipisahkan dengan

corong pemisah dan diperoleh rendemen lempuyang wangi 0,8% (v/b) dan bangle 2,50% (v/b).

Pembuatan kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan bangle dilakukan dengan menggunakan metode perbandingan. Perbandingan yang digunakan adalah 3:1, 1:1, 1:3, 1:0, dan 0:1.

Pembuatan biakan aktif bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dilakukan dengan mengambil koloni masing-masing bakteri yang kemudian dibiakkan dalam 10 ml NaCl 0,85% steril dan dihomegenkan. Suspensi yang terbentuk kemudian disamakan tingkat kekeruhannya menggunakan standar Mc. Farland 0,5.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran (*well diffusion method*). Media MH yang sudah steril dituang ke cawan petri sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan penanaman bakteri uji menggunakan metode *swab* dan didiamkan selama 10 menit, kemudian dibuat sumuran dengan diameter 10 mm sebanyak enam sumuran. Selanjutnya dimasukkan sebanyak 5 µl sampel uji minyak atsiri dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, 1:0, dan 0:1 serta kontrol positif (*gentamisin* 0,0092mg/ml) pada tiap sumuran. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.

Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan penggaris. Zona hambat diukur dengan cara mengukur diameter keseluruhan daerah transparan dikurangi diameter lubang sumuran. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali dan diambil rata-rata. Pengambilan data dilakukan sebanyak 5 replikasi pada masing-masing bakteri uji.

Data hasil pengamatan dilakukan uji normalitas dengan uji Kolmogorov-Smirnov. Apabila uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji korelasi pearson tetapi jika data tidak terdistribusi normal maka data dianalisis menggunakan uji korelasi spearman.

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan bangle terhadap bakteri *S. Aureus* dan *E. Coli* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat kombinasi minyak atsiri terhadap bakteri uji

Kelompok	Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Ma 3:1	10,67 ± 0,24	4,50 ± 0,43
Ma 1:1	14,90 ± 0,38	8,67 ± 0,41
Ma 1:3	19,67 ± 0,20	10,83 ± 0,63
Ma 1:0	8,67 ± 0,12	0
Ma 0:1	10,11 ± 0,25	13,48 ± 0,54
K+	15,50 ± 0,17	4,73 ± 0,09

Keterangan : Data disajikan dalam rata-rata ± SD (n=5)

Ma = minyak atsiri

Pada Tabel 1. dapat dilihat bahwa nilai rata-rata diameter zona hambat yang paling besar adalah kelompok minyak atsiri dengan kombinasi lempuyang wangi dan bangle (1:3) pada bakteri *S. aureus* sedangkan kelompok minyak atsiri bangle tunggal terhadap bakteri *E. Coli*.

Data hasil perhitungan kemudian dilakukan uji normalitas Kolmogrov-Smirnov untuk mengetahui apakah data masing-masing kelompok terdistribusi normal. Hasil uji menunjukkan ada beberapa kelompok yang tidak terdistribusi normal diantaranya kelompok minyak atsiri kombinasi 1:3 dan 0:1 pada bakteri *S. aureus* dan pada kelompok *E. coli* semua data menunjukkan terdistribusi normal.

Untuk kelompok data yang terdistribusi normal dilakukan analisis korelasi menggunakan pearson sedangkan data yang tidak terdistribusi normal dilakukan analisis korelasi spearman. Hasil analisis menunjukkan bahwa korelasi antar zona hambat minyak atsiri lempuyang wangi tunggal dan zona hambat minyak atsiri kombinasi 1:1 terhadap bakteri *S. aureus* adalah bermakna. Nilai korelasi Pearson sebesar 0,919 yang menunjukkan korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat. Sedangkan korelasi antar zona hambat minyak atsiri bangle tunggal dan zona hambat minyak atsiri kombinasi 1:1 dan 1:3 adalah bermakna. Nilai korelasi Spearman sebesar 0,921 dan 0,973 menunjukkan bahwa arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat.

Hasil analisis nilai korelasi antar zona hambat minyak atsiri bangle tunggal dan zona hambat minyak atsiri kombinasi 3:1 terhadap bakteri *E. coli* adalah bermakna. Nilai korelasi Pearson sebesar 0,946 menunjukkan bahwa arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat. Sedangkan lempuyang wangi tunggal tidak dilakukan analisis korelasi karena minyak atsiri Lempuyang wangi tidak menunjukkan adanya zona hambat.

Pembahasan

Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan bangle terhadap *S. aureus* lebih besar dibandingkan bakteri *E. coli*, hal ini dikarenakan adanya perbedaan komponen penyusun dinding bakteri Gram positif dan Gram negatif. *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif sedangkan *E. coli* merupakan Gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang berbeda.

Bakteri *S. aureus* mempunyai dinding sel yang mengandung banyak lapisan peptidoglikan sekitar 50 sampai 100 lapis yang membentuk struktur kaku dan tebal. Sedangkan bakteri *E. coli* hanya memiliki 1 sampai 2 lapisan peptidoglikan tetapi bakteri ini mempunyai membran luar (*outer membrane*) dan lipopolisakarida [7]. Selain itu dinding sel bakteri Gram positif terdapat asam teikoat mengandung alkohol yang terdiri dari gliserol dan ribitol [8]. Asam teikonat merupakan polimer yang bersifat larut air dan berfungsi sebagai transpor ion positif masuk dan keluar sel [9].

Zerumbon merupakan salah satu senyawa seskuiterpen yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang Lempuyang wangi dan Bangle. Senyawa bioaktif ini mempunyai struktur yang unik dengan adanya keton dalam 11 rantai karbon [10]. Senyawa dengan struktur unik ini dapat digunakan sebagai agen antimikroba yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba [11].

Kandungan zerumbon pada minyak atsiri lempuyang wangi sebesar 31,05% [3]. Sedangkan bangle mengandung zerumbon sebesar 60,77% [11]. Hal ini yang menyebabkan kombinasi minyak atsiri yang mengandung minyak atsiri Bangle mempunyai daya hambat lebih besar.

Selain mengandung zerumbon minyak atsiri mengandung senyawa-senyawa monoterpena dan seskuiterpena lain yang mempunyai aktivitas antibakteri. Lempuyang wangi mempunyai senyawa α -pinena, β -pinena, kariofilen oksida dan kamfena yang mempunyai aktivitas antibakteri [13]. Sedangkan minyak atsiri bangle mempunyai senyawa kariofilena dan α -kariofilena yang mempunyai aktivitas antibakteri [11].

Pada penelitian ini menggunakan gentamisin dengan kadar 0,0092 mg/ml. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida. Mekanisme kerja antibiotik

gentamisin sama seperti mekanisme kerja antibiotik golongan aminoglikosida lainnya yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri. Antibiotik golongan aminoglikosida juga dapat terikat pada sub unit 30 S ribosom yang akan mengakibatkan kode genetika pada mRNA tidak terbaca dengan baik sehingga mengakibatkan biosintesis protein dari bakteri dapat terhambat [14].

Minyak atsiri yang menembus membran dapat mengkoagulasi sitoplasma, merusak lemak dan protein [15], selain itu minyak atsiri dapat melarutkan fosfolipid yang merupakan penyusun dinding sel bakteri, hal ini dikarenakan komponen minyak atsiri mempunyai percabangan gugus fenol maupun alkohol [16]. Fosfolipid yang rusak atau larut menyebabkan kerusakan pada membran sel, kerusakan ini menyebabkan kebocoran sel sehingga komponen-komponen penting seperti protein, asam nukleat dan nukleotida akan keluar dari sel bakteri yang menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan aktivitas kehidupannya dan pertumbuhan bakteri tersebut dapat terhambat atau mati [1].

Kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan bangle 1:3 merupakan kombinasi yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap bakteri *S. aureus*.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kombinasi minyak atsiri lebih efektif digunakan pada infeksi yang disebabkan bakteri Gram positif karena kombinasi ini mempunyai daya hambat yang lebih tinggi terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan bakteri *E. coli*.

Beberapa saran yang dapat dilakukan peneliti selanjutnya adalah identifikasi komponen utama minyak atsiri rimpang Lempuyang wangi dan Bangle serta pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri ini terhadap bakteri-bakteri Gram negatif dan Gram positif yang lain.

Daftar Pustaka

- [1] Rupilu, N.S dan Lamapaha, Y.F., Potensi lengkuas sebagai antimikroba (studi in vitro pada bakteri gram negatif). Skripsi. Malang: Universitas Negeri Malang; 2008.
- [2] Harbone, J. B. Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Terbitan Kedua. Bandung: ITB; 1987.
- [3] Respati, N., W., B. Isolasi, identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri

rim pang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.). Skripsi. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret ; 2010.

- [4] Habsah M., Amran M., Mackeen M.M., Lajis N.H., Kikuzaki H. dan Nakatani N. Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activity. *Journal Ethnopharmacology*. 2000; 72 (3): 403-410.
- [5] Jawetz. E., J. Melnick, L. dan Adelberg, E.A. Mikrobiologi untuk profesi kesehatan. Jakarta: EGC; 1995.
- [6] Davies dan Cartwright. Gentamicin dosage intervals in neonates longer dosage interval less toxicity. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 1998; 34 (6): 577-580.
- [7] Chandarana H, Baluja S, dan Chanda V.S, Comparison of antibacterial activities of selected species of zingiberaceae family and some synthetic compounds. *Turkish Journal Biology*. 2005; 29 : 83-97.
- [8] Timotius, K. H. Mikrobiologi Dasar. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacan; 1982.
- [9] Jannata, R.H., Gunadi, A. dan Ermawati, T. Daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan streptococcus mutans. *E- Jurnal Kesehatan*. 2014; 2 (1) : 23-28.
- [10] Kitayama, T., Yokoi T., Kawai Y., Hill R.K dan Morita M. The chemistry of zerumbone structural transformation of the dimethylamine derivatives. *Tetrahedron*. 2003; 59: 4857-4866.
- [11] Kamazeri T.S.A.T., Samah O.A., Taher M., Susanti D. dan Qarelleh H. Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga* and *Zingiber cassumunar* Roxb. from Malaysia. *Asian Pacific Journal Tropical Medical*. 2012; 5 (3): 202-209.
- [12] Yamamoto, K., Kitayama T., Minagawa S., Watanabe T., Sawada S., Okatomo T., dan Utsumi R.. Antibacterial agents that inhibit histidine protein kinase YycG of *Bacillus subtilis*. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 2001; 65: 2306-2310.
- [13] Dewick, M. Medicinal natural products, second edition. John Wiley & Sons. School

- of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham; 2002.
- [14] Laurent, G., Carlier, M. B., Rollman, B., Van Hoof, F., Tulkens, P. Mechanism of aminoglycoside-induced lysosomal phospholipidosis: in vitro and in vivo studies with gentamicin and amikacin. *Biochemical Pharmacology*. 1982; 31 (5): 3861–3870.
- [15] Dorman H.J.D. dan Deans S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal Applied Microbiology*. 2000; 88(2): 308–316,
- [16] Gustafson J.E., Liew Y.C., Chew S., Markham J.L., Bell H.C., Wyllie S.G. dan Warmingtton J.R. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*. 1998; 26: 194–198.