

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL RIMPANG LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae* ISOLAT SPUTUM PENDERITA BRONKITIS SECARA IN VIVO

Lilis Alfianthi Kandou¹⁾, Fatimawali¹⁾, Widdhi Bodhi²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

²⁾Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

*This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of red galangal rhizome (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum) against the bacterium *Klebsiella pneumoniae* isolates bronchitis sputum of patients in vivo. This study using mice infected intraperitoneally bacterium *Klebsiella pneumoniae*. The sample consisted of 18 male rats wistar strain were divided into 6 groups. Group 1 (normal control) was not infected by the bacteria, group 2 (negative control), group 3 (positive control), for three days group of 4,5,6 (treatment group) was given a dose of ethanol extract of red ginger rhizome with graded doses (group 4: 0.756 g / 200g rat body weight), (group 5: 1,512g / 200g body weight rats), (group 6: 3,024g / 200g body weight rats). Data were analyzed using one-way ANOVA. The results showed that the ethanol extract of red ginger rhizome in a graded rise has antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* isolates patients with bronchitis sputum in vivo with a percentage of group 4: 3.07%, group 5: 15.05% and group 6: 19.20%.*

Keywords: red ginger rhizome, antibacterials, *K.pneumoniae*, in vivo.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* isolat sputum penderita bronkitis secara in vivo. Penelitian ini menggunakan tikus yang diinfeksi bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara intraperitoneal. Sampel terdiri dari 18 ekor tikus putih jantan galur wistar yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok 1 (kontrol normal) tidak diinfeksi bakteri, kelompok 2 (kontrol negatif), kelompok 3 (kontrol positif), Selama 3 hari kelompok 4, 5, 6 (kelompok perlakuan) diberikan dosis ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dengan dosis yang bertingkat (kelompok 4: 0,756g/200g BB tikus), (kelompok 5: 1,512g/200g BB tikus), (kelompok 6: 3,024g/200g BB tikus). Data dianalisis menggunakan metode Anova satu arah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dalam dosis yang bertingkat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* isolat sputum penderita bronkitis secara in vivo dengan persentase sebesar kelompok 4: 3,07%, kelompok 5: 5,05%, dan kelompok 6: 19,20%.

Kata kunci: Rimpang lengkuas merah, Antibakteri, *K.pneumoniae*, Invivo.

PENDAHULUAN

Infeksi saluran pernapasan adalah penyakit yang umum terjadi pada manusia. Secara umum penyebab dari infeksi saluran pernapasan adalah berbagai mikroorganisme, namun yang terbanyak akibat infeksi virus dan bakteri. Infeksi saluran pernapasan berdasarkan wilayah infeksiya terbagi menjadi infeksi saluran pernapasan atas dan infeksi saluran pernapasan bawah (Depkes RI, 2005). Berdasarkan hasil survey kesehatan nasional 2001 penyakit infeksi saluran pernapasan bawah merupakan salah satu infeksi yang penyebab kematian terbanyak di dunia (Depkes RI, 2001).

Bronkitis adalah penyakit infeksi saluran pernapasan bawah yang ditandai dengan kondisi peradangan pada daerah trakheobronkial. Bronkitis seringkali diklasifikasikan sebagai bronkitis akut dan bronkitis kronis. Bronkitis akut mungkin terjadi pada semua usia, namun bronkitis kronis umumnya hanya dijumpai pada dewasa (DepKes RI, 2005). Bronkitis akut disebabkan infeksi virus dan bronkitis kronis sebagian besar disebabkan oleh bakteri. Salah satu bakteri penyebab bronkitis yaitu *Klebsiella pneumoniae* (Ikawati, 2011).

Pengobatan klinis untuk menangani penyakit infeksi penggunaan antibiotik sangat diperlukan. Tingginya penggunaan antibiotik secara tidak tepat dikalangan masyarakat saat ini menyebabkan terjadinya masalah resistensi antibiotik. Permasalahan resistensi terjadi ketika bakteri berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau bahan lainnya yang digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi (Utami, 2012).

Penggunaan antibiotik perlu dilandasi adanya pengetahuan tentang antibiotik. Pengetahuan ini penting karena berpengaruh terhadap keberhasilan terapi antibiotik dan mencegah menyebabkan resistensi bakteri (Grigoryan *et al.*, 2007). Penggunaan antibiotik hanya diperlukan jika memang pasien benar-benar diindikasikan terinfeksi oleh bakteri. Efek samping penggunaan antibiotik dapat berupa reaksi alergi, reaksi toksik dan perubahan biologik maupun metabolik (Setiabudy, 1995). Oleh karena itu, dicari pengobatan maksimal dan alternatif lain seperti bahan alam.

Penggunaan bahan alam kini semakin meningkat pemanfaatannya sebagai obat tradisional. Karena obat tradisional banyak digunakan, mudah didapat, ekonomis dan memiliki efek samping yang relatif rendah.

Salah satu keanekaragaman hayati yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional adalah Lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum) menurut hasil penelitian Arbain 2004 lengkuas merah selain mengandung minyak atsiri juga mengandung golongan senyawa flavonoid, fenol dan terpenoid. Karena lengkuas memiliki kandungan senyawa flavonoid yang diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Yuharmen, 2002).

Sehubungan dengan adanya indikasi ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum) mempunyai daya antibakteri, maka hal ini menarik perhatian peneliti untuk melakukan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum) Terhadap Isolat *Klebsiella pneumonia* Isolat Sputum Pasien Bronkitis secara *In Vivo*.

METODOLOGI PENELITIAN

ALAT

Kandang tikus, pisau, gelas ukur, tabung reaksi (Pyrex), timbangan analitik, Erlenmeyer, beker gelas (Pyrex), corong, batang pengaduk, gunting, sudip, cawan petri, kertas saring, blender, ayakan (mesh 200), mikropipet (Ecopipette), hot plate, *rotary evaporator* (Strike 300), *laminar air flow* (Biotek), *autoclave*, incubator (Ecocell), *aluminium foil*, lampu Bunsen, pot salep, lumpang dan alu, tabung EDTA, *bench mixer*, *disposable* 1mL (OneMed), NGT (*Naso Gastric Tube*) No. 3,5 (Terumo), *colony counter*.

BAHAN

Rimpang lengkuas merah, bakteri isolat sputum penderita bronkitis (*Klebsiella pneumoniae*), tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*), etanol 96%, cairan fisiologi NaCl 0,9% (Otsuka), aquades steril (Otsuka), siprofloksasin (P.T Hexpharm Jaya), media *nutrient agar*, larutan standar Mc.Farland 0,5.

PROSEDUR KERJA

Determinasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado, dengan nama tanaman *Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum

Persiapan Tanaman

Rimpang lengkuas merah disortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan-bahan asing dari rimpang. Selanjutnya rimpang lengkuas merah

disikat dibawah air yang mengalir, ditiriskan kemudian dirajang kecil-kecil dengan menggunakan pisau, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 7 hari. Sampel kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan *mesh* 200 dan didapatkan serbuk simplisia halus

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dilakukan dengan metode maserasi. Ditimbang sebanyak 150 g kemudian dimasukkan kedalam wadah tertutup rapat. Sampel yang telah ditimbang ekstraksi dengan 2000 mL etanol 96% pada suhu kamar selama 5 hari (setiap hari digojok). Ekstrak kemudian disaring dengan kertas saring (filtrat I) dan sisanya dimaserasi kembali dengan 1000 mL pelarut etanol 96% selama 2 hari (setiap hari digojok) kemudian disaring dengan kertas saring (filtrat II). Filtrat 1 dan filtrat 2 dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada kecepatan 50 rpm dan suhu 40°C kemudian diperoleh ekstrak kental rimpang lengkuas merah.

Sterilisasi Alat

Alat –alat gelas yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu hingga bersih. Bahan yang akan digunakan dimasukkan ke dalam alat gelas. Kemudian alat dan bahan dibungkus dengan *aluminium foil*. Setelah itu dimasukkan ke dalam autoklaf untuk sterilisasi dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji (isolat sputum) dibiakkan pada media *nutrient agar* selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian bakteri diambil dengan jarum *Ose* dan disuspensikan dengan cara dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 mL larutan NaCl fisiologi steril 0,9%. Suspensi yang

terbentuk disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar Mcfarland No.0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Kumala *et al.*,2009).

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Hewan uji dikelompokkan menjadi 6 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor hewan uji yang telah diaklimatisasi selama 14 hari dan diberikan makan dan minum. Untuk kelompok 1 tidak diinfeksi bakteri *Klebsiella pneumonia* dan kelompok 2, 3, 4, 5 dan 6 diinfeksi dengan 2 mL suspensi bakteri *Klebsiella pneumonia* secara intraperitoneal dengan cara bakteri disuntikkan dibagian perut. Pengobatan dilakukan setelah 24 jam infeksi dan hewan uji dipuasakan selama 8 jam sebelum pemberian pengobatan. Kelompok 1 dan 2 diberikan masing-masing 2 mL aquades, kelompok 3 diberikan dosis siprofloksasin, kelompok 4 diberikan dosis I ekstrak lengkuas merah, kelompok 5 diberikan 2x dosis I ekstrak lengkuas merah, dan kelompok 6 diberikan 4x dosis I ekstrak lengkuas merah. Dosis siprofloksasin dan ekstrak dilarutkan dalam 2 mL aquades. Pengobatan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian diperoleh dengan perhitungan koloni yang terbentuk pada

Tabel 1. Hasil Hitung Koloni Bakteri Darah Tikus dengan *Colony Counter*

No. Tikus	K1	K2	K3	K4	K5	K6
1	0	400	7	250	30	15
2	0	325	3	260	90	47
3	0	450	19	275	65	50

Tabel 2. Hasil Perhitungan Koloni Bakteri

No. Tikus	K1	K2	K3	K4	K5	K6
1	0	4×10^5	7×10^3	$2,5 \times 10^5$	3×10^4	$1,5 \times 10^4$
2	0	$3,25 \times 10^5$	3×10^3	$2,6 \times 10^5$	9×10^4	$4,7 \times 10^4$
3	0	$4,5 \times 10^5$	19×10^3	$2,75 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$	5×10^4

dilakukan secara oral 1 kali sehari selama 3 hari.

Pengambilan darah hewan uji pada hari ke-4. Hewan uji dipuasakan selam 8 jam dan dilakukan pemotongan ekor hewan uji di *laminar air flow*. Darah tikus yang diperoleh sebanyak 0,1 mL masing-masing dimasukkan dalam tabung EDTA. Darah tikus yang telah diambil sebanyak 0,1 mL dilakukan pengenceran bertingkat. Kemudian dipipet sebanyak 0,1 mL sampel pada tingkat pengenceran 10^{-2} dan dikulturkan pada media *nutrient agar* setelah diinkubasi pada suhu 37°C selam 24 jam. Koloni yang terbentuk kemudian dihitung dengan menggunakan alat *colony counter*.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan metode *One-way ANOVA* dengan menggunakan program statistika SPSS versi 22. Bila *P-value* kurang dari 0,05 artinya pemberian ekstrak etanol umbi bawang putih dengan berbagai dosis mempengaruhi penghambatan bakteri isolat sputum penderita bronkitis dengan cara *in vivo* secara signifikan.

masing-masing cawan petri. Adapun data hasil perhitungan koloni dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Persentase Aktivitas Antibakteri

Persentase Aktivitas Antibakteri (%)					
K1	K2	K3	K4	K5	K6
-	-	30,8	3,07	15,05	19,20

Pada penelitian ini pemberian infeksi bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara intraperitoneal pada tikus jantan, bakteri ini bersifat patogen jika terdapat ditempat lain (bukan flora normal) (Kumala, 2009). *Klebsiella pneumoniae* terdapat dalam feses dan saluran napas sebanyak 5% (Elfidasari, 2013). Infeksi secara intraperitoneal dirongga perut merupakan tempat yang tidak ada bakteri (Kumala, 2009). Jika bakteri *Klebsiella pneumoniae* diberikan secara oral maka akan menuju ke saluran napas dan akan bercampur dengan flora normal sehingga saat akan direisolasi kemungkinan bakteri yang akan ditemukan adalah flora normal bukan bakteri yang diinjeksi.

Dari hasil pengamatan diperoleh, pada kelompok kontrol normal tidak terdapat pertumbuhan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*, hal ini dikarenakan darah bersifat steril. Oleh karena itu pada kelompok kontrol normal tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri karena kelompok ini tidak diberi infeksi bakteri.

Pada kelompok kontrol negatif, terjadi pertumbuhan koloni bakteri yang paling banyak. Hal ini disebabkan karena setelah 24 jam terinfeksi dan selama 3hari berturut-turut kelompok ini hanya diberikan aquades steril. Aquades steril tidak memiliki potensi sebagai antibakteri, sehingga bakteri yang disuntikkan pada tikus terus bertumbuh.

Kelompok-kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dengan berbagai dosis menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri pada kelompok kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan I dengan dosis I (0,756 g/ 200g BB tikus) sebesar 3,07%, 2x dosis I (1,512 g/200 g BB tikus) sebesar 15,05%, 4x dosis I (3,024 g/200g BB tikus) sebesar 19,20%. Adanya penurunan koloni dengan pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas merah menunjukkan adanya aktifitas antibakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Aktivitas antibakteri ekstrak lengkuas merah terkandung pada kandungan kimianya. Minyak atsiri tersusun dari berbagai macam komponen yang secara garis besar terdiri dari kelompok terpenoid dan fenil propana. Fenil propana memiliki percabangan rantai berupa gugus-gugus fenol dan eter fenol. Senyawa fenol memiliki efek korosif, dapat mendenaturasi protein, merusak dinding dan membran sel dan menonaktifkan enzim-enzim. Senyawa ini bersifat bakterisid (termasuk mikobakteri), fungisid, dan mampu menonaktifkan virus-virus lipofilik (Guenther, 2006).

Zat aktif pada ekstrak lengkuas merah diduga mempunyai efektivitas sebagai antibakteri adalah minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri dari flavonoid dan fenil propana.

Mekanisme kerja antibakteri ekstrak lengkuas merah dalam menghambat bakteri adalah merusak susunan dan perubahan mekanisme permeabilitas dinding sel bakteri.

Pada setiap kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dengan pemberian dosis memberikan aktivitas antibakteri yang berbeda. Semakin tinggi dosis yang diberikan aktivitas antibakterinya semakin besar atau semakin banyak jumlah zat aktif yang sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar dan Chan (1988) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu zat antibiotik maka semakin cepat mikroorganisme terbunuh dan terhambat pertumbuhannya.

Pada kelompok yang diberikan pengobatan dengan antibiotik siprofloksasin memiliki persentase 30,8%. Menurut PerMenkes Nomor 2406 (2011), pemilihan jenis antibiotik salah satunya harus berdasarkan pada pola kepekaan kuman terhadap antibiotik. Selain itu siprofloksasin merupakan pilihan terapi pada penderita bronkitis yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* (Ikawati, 2011). Pemilihan siprofloksasin sebagai kontrol positif menunjukkan ada aktivitas antibakteri oleh antibiotik siprofloksasin. Siprofloksasin bekerja menghambat sintesis DNA bakteri dengan menghambat enzim, girase DNA (Kee dan Hayer, 1996). Dimana pada bakteri terjadi penghambatan DNA gyrase yaitu mencegah relaksasi supercoiled DNA secara positif yang dibutuhkan untuk transkripsi dan replikasi normal.

Pada hasil uji statistik yang diawali dengan uji homogenitas varian, diperoleh nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ($0,098 > 0,05$) yang berarti H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$. Data yang

diuji memiliki varian yang sama (homogen) sehingga dapat memenuhi syarat untuk dilakukan metode *ANOVA One Way*.

Pada uji statistik *ANOVA One Way* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($\text{Sig} < 0,05$). Nilai F hitung yang didapatkan yaitu 76,111. Nilai F tabel 3,48. Maka diperoleh F hitung $> F$ tabel ($76,111 > 0,05$), sehingga H_1 diterima yaitu data jumlah koloni bakteri darah tikus ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok perlakuan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum) dengan dosis yang berbeda memberikan aktivitas antibakteri terhadap tikus yang diinfeksi bakteri *Klebsiella pneumoniae* isolat sputum pasien bronkitis. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin besar persentase aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. schum) yaitu 3,07 %, 15,05 %, dan 19,20 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2000, Profil Kesehatan Indonesia 2001.
- Anonim 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Infeksi Saluran Pernapasan*. Depkes RI, Jakarta
- Elfidasari, D., Noriko, N., Mirasaraswati, A., Feroza, A., Canadianti, Siti Fauziah. 2013. Deteksi Bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada Beberapa jenis Rokok Konsumsi Masyarakat. *Jurnal Al-Azhar*

Indonesia Seri Sains dan Teknologi,
2(1).

Guenther, E., 2006, *Minyak Atsiri*. Penerbit
Universitas Indonesia, Jakarta.

Grigoryan, L, Burgerhof, J.G.M., Degener,
et al, 2007. *Attitude, Beliefs and
Knowledge Concerning Antibiotic
Use and Self -Medication: A
Comparative Europe Study*. Wiley
InterScience, p. 1234- 1234.

Ikawati, Z. 2011. *Penyakit Sistem
Pernafasan dan Tatalaksana
Terapinya*. Bursa Ilmu, Yogyakarta.

Kee, Joyce L., Hayer, Evelyn R. 1996.
*Farmakologi Pendekatan Proses
Keperawatan*. EGC. Jakarta

Pelczar, M.J. Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-
dasar Mikrobiologi Jilid*. UI Press.
Jakarta

Setiabudy, R., dan Gan H.S.V. 1995.
*Antimikroba : Farmakologi dan
Terapi*. Edisi ke 4. Gaya Baru,
Yogyakarta

Utami ER. Antibiotika, resistensi, dan
rasionalitas terapi. *Saintis* 2012:
1(1):124-38

Yuharmen, 2002. *Uji Aktivitas
Antimikroba Minyak Atsiri dan
Ekstrak Methanol Lengkuas
(Lengkuas galanga)* Jurusan Kimia,
FMIPA. Universitas Riau: Riau