

**UJI ANTIBAKTERI
EKSTRAK BATANG KECOMBRANG (*Nicolaia speciosa* Horan)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**ANTIBACTERIAL TEST
OF KECOMBRANG (*Nicolaia speciosa* Horan) STEM EXTRACT
AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli***

Ancela Rabekka Lingga¹, Usman Pato² and Evy Rossi²
Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau
Kode Pos 28293 Ancelal@yahoo.com

ABSTRACT

The aims of the research were to learn capability antibacterial of *kecombrang* stem extract against the growth *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) score. This research conducted an experiment by the antibacterial activity of *kecombrang* stem extracts by using polar, nonpolar and semipolar solvents against *S. aureus* and *E. coli*. The antibacterial activity was tested by using paper disk diffusion method and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) score by using dilution. The data obtained were tabulated and analysed descriptively. The antibacterial test show that ethyl acetate extract formed clear zone ranged between 1-3,5 mm in diameters, which was higher than water extract (0,73-3,16 mm) and hexane extract (0,8-1,8 mm) *kecombrang* stem. Scores MIC show that ethyl acetate extract of *kecombrang* stem that inhibited the growth of *E. coli* dan *S. aureus* at concentration of 20 and 40% and extract water of *kecombrang* stem inhibited the growth of *E. coli* at concentration 80% and *S. aureus* at concentration of 40%. Meanwhile hexane extract of *kecombrang* stem inhibited the growth of *E. coli* and *S. aureus* at concentration 100%.

Keyword: Antibacterial, *Kecombrang* stem, *E coli*, *S. aureus*,

PENDAHULUAN

Tanaman *kecombrang* merupakan tanaman rempah-rempah yang termasuk dalam golongan Zingiberaceae dan sudah dikenal lama oleh manusia dalam pembuatan obat bahkan juga pada sayur-sayuran. Tanaman *kecombrang* telah dimanfaatkan masyarakat sebagai obat-obatan seperti kanker, tumor dan juga sebagai bahan kosmetik alami seperti cairan pencuci rambut dan bahan pencampur bedak. Bunga *kecombrang* banyak digunakan oleh

masyarakat sebagai bahan tambahan dalam pengolahan sayur contohnya pecel, daun ubi, urap, sambal dan bahkan juga dikonsumsi sebagai lalapan. Bukan hanya bunga *kecombrang* saja yang sering digunakan, batang *kecombrang* juga berfungsi sebagai penambah cita rasa pada masakan daging (Naufalin, 2005). Batang semu *kecombrang* berpotensi sebagai bahan baku pembuatan kertas dan digunakan

1. Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau
2. Dosen Fakultas Pertanian Universitas Riau
JOM Faperta Vol. 2 No. 2 Oktober 2015

untuk membuat anyam-anyaman (Anggraeni, 2007).

Penelitian tentang tanaman kecombrang dalam bentuk ekstrak telah banyak dilakukan. Komponen kimia dari bunga kecombrang terdiri dari alkaloid, flavonoid, polifenol, minyak atsiri, saponin dan steroid. Jaffar *et al.* (2007) menyatakan bahwa pada daun, batang, bunga dan *rhizome* tanaman kecombrang menunjukkan adanya beberapa jenis minyak esensial yang kemungkinan bersifat bioaktif. Kandungan minyak esensial tertinggi adalah pada daun yaitu sebesar 0,0735%, bunga sebesar 0,0334%, batang 0,0029% dan *rhizome* sebesar 0,0021% (Hudaya, 2010). Batang kecombrang memiliki potensi sebagai antibakteri, hal ini ditunjukkan dengan adanya kandungan minyak esensial sebesar 0,0029% dan kandungan flavonoid pada batang kecombrang. Bagian batang kecombrang yang sering digunakan oleh masyarakat adalah batang bagian dalam. Hal ini disebabkan karena pada bagian dalam batang kecombrang lebih banyak mengandung flavonoid dari pada bagian luar batang kecombrang. Naufalin *et al.* (2009) menyatakan bahwa batang kecombrang bagian dalam mengandung alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida yang dapat berfungsi sebagai antimikroba.

Informasi mengenai pengujian zat antibakteri ekstrak batang kecombrang masih sangat terbatas, namun penelitian tentang pengujian zat antibakteri ekstrak bunga dan daun kecombrang telah banyak dilakukan. Adityo *et al.* (2013) menyatakan bahwa fraksi metanol ekstrak batang kecombrang

memiliki efek mematikan terhadap larva instar III *Aedes aegypti*, hal ini disebabkan karena adanya senyawa flavonoid pada batang kecombrang, dimana flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit yang penting dan menginaktifkan enzim yang ada. Edmi dan Kurniawan, (2012) menyatakan bahwa fraksi n-heksana ekstrak batang kecombrang juga memberikan efek larvasida pada larva instar III *Aedes aegypti* dan menyebabkan *A. aegypti* mengalami kematian.

Naufalin (2005) menyatakan bahwa zat antibakteri dari ekstrak etanol dan etil asetat dari bunga kecombrang dapat menghambat berbagai bakteri seperti *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* dan *Aeromonas hydrophilia*. Hudaya (2010) menyatakan bahwa ekstrak air bunga kecombrang bersifat antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan potensi dari kecombrang sebagai zat antibakteri terutama pada bagian batang, maka penulis telah melakukan penelitian dengan judul “Uji zat antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kemampuan antibakteri ekstrak batang kecombrang terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dan menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil

Pertanian dan Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian Fakultas Pertanian, Universitas Riau. Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan dari bulan Juni sampai November 2015.

Bahan utama dalam penelitian ini adalah batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) yang diperoleh dari pasar pagi kota Pekanbaru dan pelarut polar (air akuades), nonpolar (heksana) dan semipolar (etil asetat). Bahan yang digunakan untuk media tumbuh yaitu *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrien Broth* (NB). Bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Esherichia coli* FNCC-195. Bahan penunjang lainnya yaitu kertas saring *whatman* No. 1, kertas cakram, alkohol, *tissue*, garam fisiologis dan kain saring.

Alat yang digunakan untuk penelitian adalah *blender*, *rotary evaporator*, *erlenmeyer*, *beaker glass*, tabung reaksi, cawan petri, timbangan analitik, *autoclave*, *hot plate*, *magnetic stirer*, inkubator, *laminar air flow*, lampu bunsen, mikro pipet, *pump* pipet, pipet tetes, *automatic mixer*, rak tabung reaksi, penjepit, spatula, *hockey stick*, jangka sorong, jarum ose, gelas ukur, gelas piala, gunting, pipet ukur, *refrigerator*, kertas label, penangas air, *aluminium foil*, plastik *wrap*, koran, gunting, *centrifuse* dan lain-lain.

Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan menguji ekstrak dari batang kecombrang menggunakan pelarut polar (air akuades), nonpolar (heksana) dan semipolar (etil asetat) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Aktivitas antibakteri diuji dengan menggunakan metode difusi

kertas cakram dan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) menggunakan metode pengenceran. Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Antibakteri

Penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak batang kecombrang dengan metode difusi cakram dengan menggunakan kertas cakram. Metode kertas cakram yaitu meletakkan kertas cakram yang telah direndam dalam pelarut di atas media padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Pengujian dilakukan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan menggunakan ekstrak batang kecombrang dengan masing-masing konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100%. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur zona hambat dari masing-masing konsentrasi ekstrak batang kecombrang.

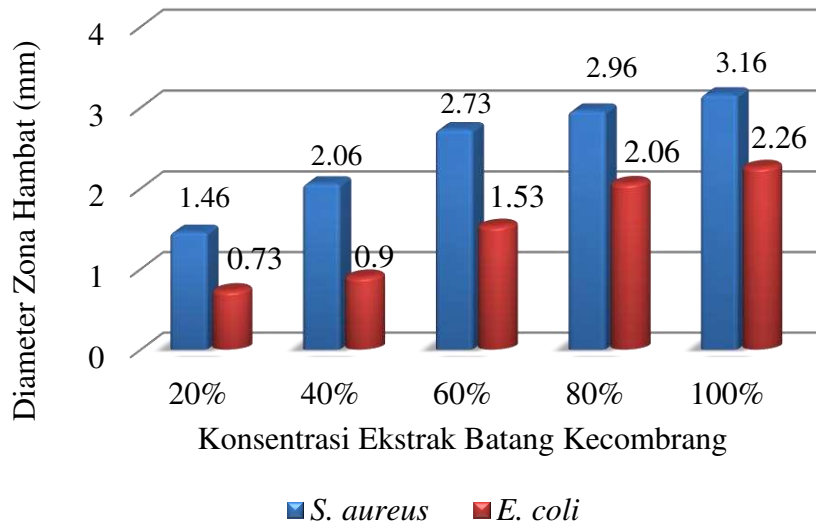
Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Batang Kecombrang terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak air batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S.aureus* pada konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100% dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak air batang kecombrang dapat meningkatkan daya antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, yang ditunjukkan dengan bertambahnya diameter zona hambat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100% ekstrak air batang kecombrang memiliki aktivitas antibakteri baik terhadap *E. coli* maupun *S. aureus* dengan terbentuknya zona hambat

pada masing-masing konsentrasi ekstrak air batang kecombrang. Semakin besar diameter zona hambat

maka semakin besar aktivitas antibakterinya (Ningtyas, 2010).



Gambar 3. Diameter zona hambat (mm) ekstrak air batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan berbagai konsentrasi

Jenie dan Kuswanto (1994) menyatakan bahwa keefektifan suatu zat antibakteri dalam menghambat pertumbuhan tergantung pada sifat bakteri uji, konsentrasi dan lamanya waktu kontak. Hasil diameter zona hambat ekstrak air batang kecombrang diperoleh zona hambat yang berbeda-beda terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100% yaitu 1,46, 2,06, 2,73, 2,96 dan 3,16 mm. Diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli* pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100% secara berturut-turut yaitu 0,73, 0,9, 1,53, 2,06 dan 2,26 mm.

Ekstrak air batang kecombrang pada konsentrasi 20% sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk pada bakteri *S. aureus* lebih besar dari pada *E. coli*.

Hal ini disebabkan karena *S. aureus* dan *E. coli* berasal dari golongan bakteri yang berbeda yaitu bakteri *S. aureus* sebagai Gram positif dan bakteri *E. coli* sebagai Gram negatif. Kartika (1999) menyatakan bahwa jenis bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri Gram negatif.

Respon yang berbeda dari dua golongan bakteri terhadap ekstrak air batang kecombrang disebabkan karena adanya kepekaan yang berbeda antara bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Peleazar dan Chan (1986) menyatakan bahwa sel bakteri Gram negatif mempunyai struktur yang berlapis-lapis serta kandungan lemak yang relatif lebih tinggi (11-12%), sehingga lebih tahan terhadap perubahan lingkungan yang disebabkan oleh bahan kimia. Sedangkan jenis bakteri Gram positif secara umum mempunyai struktur

dinding sel lebih sederhana yaitu 90% dimana dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan sedangkan lapisan lainnya adalah asam teikoat (Fardiaz, 1989). Hal inilah yang diduga mengakibatkan dinding sel bakteri Gram positif mudah dirusak oleh senyawa antibakteri dari ekstrak air batang kecombrang dari pada bakteri Gram negatif.

Perbedaan aktivitas penghambatan antara *S. aureus* dan *E. coli*, salah satunya dapat dikarenakan oleh penggunaan jenis pelarut. Air salah satu jenis pelarut polar, sehingga senyawa bioaktif yang tersaring juga bersifat polar. Kepolaran senyawa yang tersaring inilah yang membuat senyawa bioaktif pada ekstrak air batang kecombrang lebih mudah untuk menembus dinding sel bakteri Gram positif sehingga terlihat diameter zona hambat *S. aureus* lebih besar di bandingkan dengan *E. coli*. Menurut Dewi (2010) Asam teikoat sebagai penyusun dinding sel bakteri Gram positif merupakan polimer larut dalam air yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar dan masuk. Sifat larut air ini menunjukkan bahwa dinding sel bakteri Gram positif bersifat lebih polar, sehingga senyawa bioaktif yang bersifat polar dengan mudah masuk kedalam dinding sel dan merusak lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang bersifat nonpolar.

Naufalin (2005) menyatakan bahwa ekstrak etanol (polar) bunga kecombrang menghasilkan komponen fenolik, terpenoid, alkaloid, saponin dan glikosida. Komponen fitokimia yang terlarut dalam pelarut polar inilah yang menyebabkan bakteri uji memiliki daya hambat yang berbeda dan lebih

besar pengaruhnya terhadap bakteri *S. aureus*. Hal ini juga didukung oleh pendapat Ningtyas (2010) yang menyatakan bahwa senyawa yang bersifat polar sukar untuk melalui dinding sel Gram negatif karena kandungan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas kandungan lipid yang lebih banyak dari pada sel bakteri Gram positif yang kandungan dinding selnya adalah peptidoglikan.

Senyawa fenol mampu memutuskan ikatan silang peptidoglikan dalam usahanya menerobos dinding sel. Setelah menerobos dinding sel, senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran nutrient sel dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membrane sel (seperti protein dan fosfolipida) serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrofobik yang berakibat meningkatnya permeabilitas membran. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme (Prindle, 1983).

Hasil pengujian ekstrak air batang kecombrang diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Hal ini disebabkan karna semakin banyak senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak tersebut. Ningtyas (2010) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak kandungan bahan aktif antibakterinya. Penambahan konsentrasi senyawa antibakteri diduga dapat meningkatkan penetrasi senyawa antibakteri ke bagian dalam sel mikroba yang akan merusak sistem metabolisme sel dan dapat mengakibatkan kematian sel.

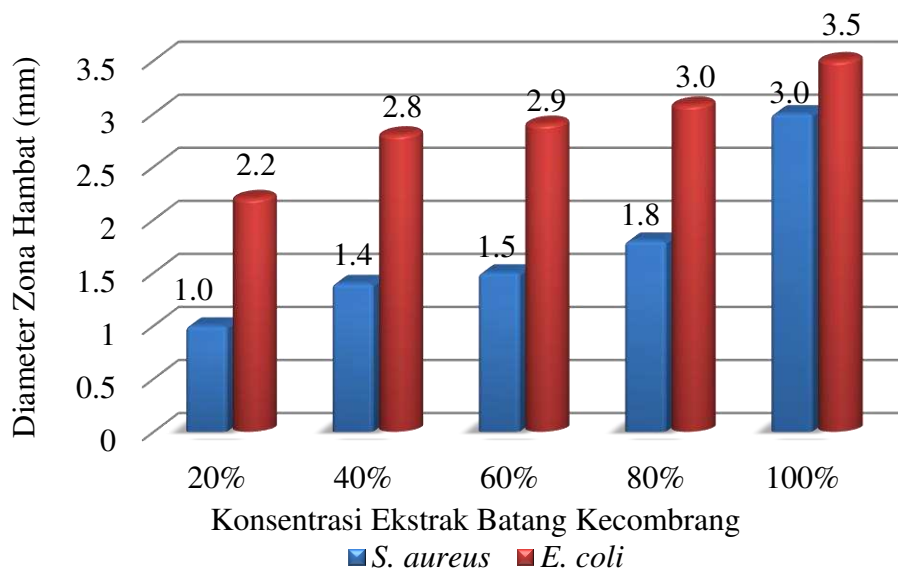
Pertumbuhan bakteri sebagian besar akan semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi antibakteri yang ditambahkan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan semakin besar, sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel (Maleki *et al.*, 2008).

Jika dikaitkan dengan ketentuan kriteria aktivitas daya hambat yang dikemukakan oleh David dan Stout (1971) dalam Rita (2010) zona hambat yang terbentuk ≥ 20 mm dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat, 10-20 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat kuat, 5-10 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat sedang dan ≤ 5 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat lemah. Kriteria aktivitas daya hambat dari ekstrak air batang kecombrang pada konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100% dianggap memiliki aktivitas daya hambat lemah karena zona hambat yang dihasilkan ≤ 5 mm.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil asetat Batang Kecombrang terhadap *E. coli* dan *S. aureus*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak Etil asetat batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S. aureus* pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100% dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat batang kecombrang memiliki efek antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram yang telah dicelupkan kedalam ekstrak. Diameter zona hambat yang dibentuk pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 % terhadap *E. coli* secara berturut-turut yaitu 2,2, 2,8, 2,9, 3,0 dan 3,5 mm. Diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100% terhadap *S. aureus* secara berturut-turut yaitu 1, 1,4, 1,5, 1,8 dan 3 mm. Diameter zona hambat bertambah terhadap *E. coli* dan *S. aureus* seiring dengan bertambah tingginya konsentrasi ekstrak etil asetat.



Gambar 4. Diameter zona hambat (mm) ekstrak etil asetat batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan berbagai konsentrasi

Ekstrak etil asetat batang kecombrang memiliki antibakteri yang lebih besar terhadap *E. coli* dari pada *S. aureus*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat yang lebih besar terhadap *E. coli*, dimana pada konsentrasi 20% ekstrak etil asetat diameter zona hambatnya adalah 2,2 mm. Sedangkan pada *S. aureus* diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20% masih lebih kecil dari pada zona hambat yang terbentuk pada *E. coli* yaitu 1 mm.

Perbedaan zona hambat antara *S. aureus* dan *E. coli* karena faktor perbedaan kepolaran dari senyawa yang terkandung dalam sampel uji. Diduga ekstrak bioaktif batang kecombrang yang aktif lebih bersifat non polar, sehingga senyawa aktif yang keluar lebih banyak bersifat nonpolar dan membuat lebih mudah terikat pada dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih banyak mengandung lipid. Sementara bakteri Gram positif merupakan bakteri yang memiliki dinding sel terdiri dari 90% peptidoglikan yang mampu mengikat senyawa polar sehingga lebih memberi efek penghambat terhadap senyawa yang lebih polar (Jawetz *et al.*, 2005).

Proses perakitan dinding sel bakteri diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan dengan rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna untuk dapat membunuh mikroorganisme, bahan uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Sehingga dinding sel akan rusak yang disebabkan karena terjadinya penghambatan terhadap

sintesis dinding sel. Senyawa yang menghalangi dalam tahap apapun dalam sintesis peptidoglikan akan menyebabkan dinding sel bakteri diperlemah dan sel menjadi lisis (Jawetz *et al.*, 2011). Lisisnya sel bakteri dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel yang mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri yang memiliki tekanan osmotik dalam yang tinggi (Ajizah *et al.*, 2007). Tanpa dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mati.

Etil asetat merupakan salah satu jenis pelarut semipolar. Pelarut yang bersifat semipolar digunakan untuk melarutkan komponen yang bersifat polar sekaligus nonpolar. Pelarut semipolar seperti etil asetat mampu melarutkan komponen dari golongan alkaloida, aglikon dan glikosida (Houghton dan Raman, 1998). Hasil penelitian Naufalin (2005) menunjukkan bahwa analisis fitokimia bunga kecombrang yang diekstraksi dengan etil asetat dapat mengekstraksi steroid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, dan glikosida. Rahayu (1999) menyatakan bahwa pelarut etil asetat merupakan pelarut semipolar yang dapat melarutkan alkaloid dan aglikon.

Rahmawati (2009) menyatakan bahwa flavonoid merupakan kelompok fitokimia fenolik yang berfungsi sebagai antimikroba. Flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi dimana senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karna dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis

makro molekul. Kerusakan yang ditimbulkan flavonoid yaitu kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom (Cushnie dan Lamb, 2005). Sinergisme dari komponen fitokimia dalam ekstrak etil asetat diduga lebih mudah berdifusi dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri, karena memiliki polaritas yang optimum.

Kanazawa *et al.* (1995) menyatakan bahwa suatu senyawa yang mempunyai polaritas yang optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofobik-lipofilik atau *hydrophilic lipophilic balance* (HLB). 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 diperlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik untuk mencapai aktivitas yang optimal (Branen dan Davidson, 1993).

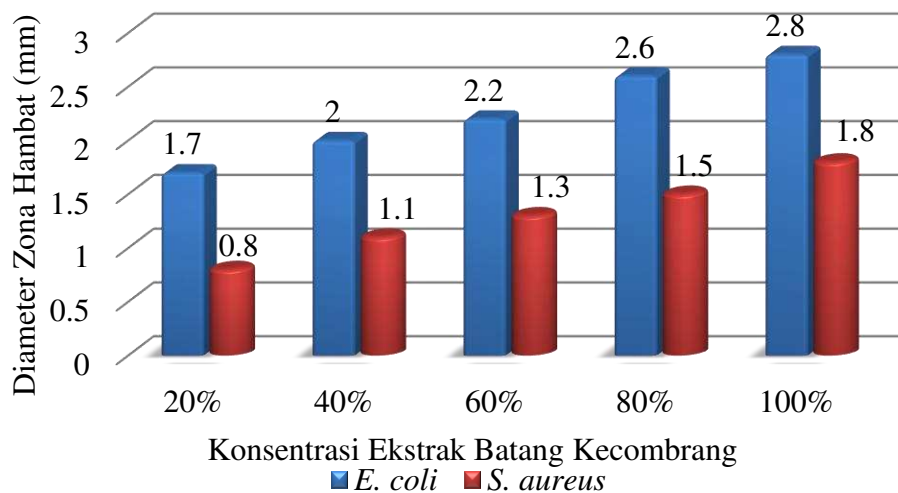
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat lebih besar aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dibandingkan dengan ekstrak air dan heksana batang kecombrang. Hal ini disebabkan karena pelarut etil asetat merupakan salah satu jenis pelarut semipolar yang memiliki polaritas yang optimum dimana etil asetat dapat melarutkan senyawa bioaktif yang bersifat polar dan semipolar sekaligus. Penelitian dari Naufalin

(2005) juga menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat (semipolar) bunga kecombrang memiliki aktivitas yang lebih tinggi dari pada ekstrak etanol bunga kecombrang terhadap *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *A. hydrophila* dan *P. aeruginosa*. Parhusip (2006) juga melakukan penelitian aktivitas antibakteri menggunakan ekstrak etil asetat andaliman, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat andaliman memiliki penghambatan paling tinggi dibandingkan ekstrak methanol terhadap *B. cereus* dan *S. aureus*.

Jika dikaitkan dengan ketentuan kriteria aktivitas daya hambat yang dikemukakan oleh David dan Stout (1971) dalam Rita (2010) zona hambat yang terbentuk ≥ 20 mm dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat, 10-20 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat kuat, 5-10 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat sedang dan ≤ 5 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat lemah. Kriteria aktivitas daya hambat dari ekstrak air batang kecombrang pada konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100% dianggap memiliki aktivitas daya hambat lemah karena zona hambat yang dihasilkan ≤ 5 mm.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Heksana Batang Kecombrang terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak heksana batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S.aureus* pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100% dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Diameter zona hambat (mm) ekstrak heksana batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan berbagai konsentrasi

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap ekstrak nonpolar (heksana) batang kecombrang menunjukkan bahwa ekstrak nonpolar batang kecombrang mampu menghambat bakteri Gram negatif (*E. coli*) dan Gram positif (*S. aureus*) yang dapat dilihat pada Gambar 5. Pengujian ekstrak heksana batang kecombrang menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan semakin besar zona hambat yang terbentuk. Daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100% pada *E. coli* yaitu 1,7, 2, 2,2, 2,6, dan 2,8 mm. Sedangkan daya hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100% pada *S. aureus* yaitu 0,8, 1,1, 1,3, 1,5, dan 1,8 mm.

Madigan *et al.* (2003) menyatakan bahwa terbentuknya zona hambat sangat tergantung oleh jumlah bahan antibakteri yang diteteskan ke cakram, daya larut antibakteri tersebut ke media, koefisien difusi, dan efektivitas antibakteri tersebut. Konsentrasi ekstrak heksana batang kecombrang

yang semakin meningkat memberikan daya hambat yang semakin besar pula karena semakin banyaknya ekstrak yang bersifat antibakteri terakumulasi pada media tumbuh sehingga semakin dapat mengganggu proses pertumbuhan bakteri uji. Senyawa yang terdapat pada ekstrak nonpolar adalah trigliserida, asam lemak dan minyak atsiri (Houghton dan Rahman, 1988).

Kemampuan senyawa nonpolar (heksana) dalam menghambat mikroba telah dilakukan oleh Suryan *et al.* (2010) yang mengekstrak daun tabar-tabar (*Costus speciosus*) dengan pelarut heksana. Hasil ekstrak tersebut mampu menghambat mikroba *E. coli*, *Bacillus sp.*, *Candida albicans*, *S. aureus* dan *S. marcescens*. Rahayu (1999) juga melakukan penelitian tentang kemampuan senyawa nonpolar (heksana) ekstrak rimpang lengkuas dalam menghambat mikroba. Hasil ekstrak tersebut mampu menghambat mikroba *V. cholerae*, *Pseudomonas sp.*, *B. cereus* dan *S. aureus*. Kubo *et al.* (1992) juga telah

meneliti beberapa macam komponen flavor polifenol nonpolar (indol, linalool, neralidol, genarol, 1-octanol, dll.) dari teh hijau yang ternyata dapat menghambat beberapa mikroorganisme seperti *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* dan *Candida utilis*.

Kemampuan senyawa nonpolar dalam menghambat bakteri diduga karena senyawa nonpolar dapat menyebabkan perubahan komposisi membran sel dan terjadinya pelarutan membran sel, sehingga membran sel mengalami kerusakan. Selain itu, komponen nonpolar juga dapat berinteraksi dengan protein membran yang menyebabkan kebocoran isi sel (Sikkema *et al.*, 1995). Hoghton dan Raman (1998) menyatakan bahwa senyawa yang terdapat pada ekstrak nonpolar adalah trigliserida, asam lemak dan minyak atsiri. Naufalin (2005) menyatakan bahwa komponen fitokimia ekstrak heksana bunga kecombrang terdiri dari steroid, triterpenoid, alkaloid dan glukosida. Steroid hanya terekstrak dalam pelarut heksana dan etil asetat

Pengujian lebih lanjut terhadap ekstrak air, etil asetat dan heksana batang kecombrang yaitu menentukan nilai MIC terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan metode kontak pada media NB. *Minimum Inhibitory Concentration* adalah konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lebih dari 90% (Baron *et al.*, 1995; Carson dan Riley 1995). Nilai MIC suatu senyawa antibakteri yang lebih rendah menunjukkan bakteri lebih rentan terhadap komponen tersebut. Hasil pengujian MIC diketahui persentasi penghambatan ekstrak air, etil asetat dan heksana batang kecombrang terhadap bakteri uji pada berbagai konsentrasi dapat

dari ekstrak bunga kecombrang. Robinson (1995) menyatakan bahwa steroid sebagian bersifat nonpolar sampai semipolar, sehingga dalam proses isolasi dapat menggunkan pelarut yang memiliki sifat nonpolar dan semipolar.

Jika dikaitkan dengan ketentuan kriteria aktivitas daya hambat yang dikemukakan oleh David dan Stout (1971) dalam Rita (2010) zona hambat yang terbentuk ≥ 20 mm dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat, 10-20 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat kuat, 5-10 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat sedang dan ≤ 5 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat lemah. Kriteria aktivitas daya hambat dari ekstrak air batang kecombrang pada konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100% dianggap memiliki aktivitas daya hambat lemah karena zona hambat yang dihasilkan ≤ 5 mm.

Minimum Inhibitor Concentration (MIC)

dilihat pada Tabel 1. Pengukuran daya hambat minimum ini dapat dilakukan dengan mengukur perbandingan antara jumlah awal bakteriuji dengan jumlah bakteri ujisesudah diinkubasi dengan ekstrak batang kecombrang.

Nilai MIC ekstrak air batang kecombrang terhadap *E. coli* adalah pada konsentrasi 80%, dimana konsentrasi tersebut sudah dapat mematikan 91,38% bakteri uji. Sedangkan nilai MIC ekstrak air batang kecombrang terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 40%, dimana konsentrasi tersebut sudah dapat mematikan 92,95% bakteri uji. Nilai MIC ekstrak etil asetat batang kecombrang terhadap *E. coli* adalah

pada konsentrasi 20 %, dimana konsentrasi tersebut sudah dapat mematikan 90,82% bakteri uji. Sedangkan nilai MIC ekstrak etilasetat terhadap *S. aureus* adalah pada konsentrasi 40%, dimana pada konsentrasi tersebut sudah dapat mematikan 98,03% bakteri uji. Nilai

MIC ekstrak heksana batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S. aureus* adalah pada konsentrasi yang sangat tinggi yaitu 100%. Konsentrasi heksana 100% dapat menghambat 98,83% bakteri *E. coli* dan 94,34% pada bakteri *S. aureus*.

Jenis Bakteri	Jenis Pelarut	Konsentrasi Ekstrak (%)	Jumlah bakteri (CFU/ml) (No)	Jumlah bakteri (CFU/ml) inkubasi 24 jam (Nt)	% Penghambatan = $100\% - (Nt/No \times 100\%)$
<i>E. coli</i>	Air	20	$N_0 = 1,81 \times 10^{11}$	$5,0 \times 10^{10}$	72,3
		40		$2,8 \times 10^{10}$	84,4
		60		$2,0 \times 10^{10}$	89,2
		80*		$1,6 \times 10^{10}$	91,4
		100		$9,0 \times 10^9$	95,0
	Etil Asetat	20*		$1,7 \times 10^{10}$	90,8
		40		$1,7 \times 10^{10}$	90,6
		60		$1,3 \times 10^{10}$	92,6
		80		$3,0 \times 10^8$	99,8
		100		$1,0 \times 10^8$	99,9
	Heksana	20		$5,0 \times 10^{10}$	72,4
		40		$3,3 \times 10^{10}$	81,9
		60		$2,2 \times 10^{10}$	87,8
		80		$3,2 \times 10^{10}$	81,9
		100*		$2,1 \times 10^9$	98,8
<i>S. aureus</i>	Air	20	$N_0 = 1,22 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^9$	88,0
		40*		$9,0 \times 10^8$	92,9
		60		$6,5 \times 10^8$	94,7
		80		$3,0 \times 10^8$	97,7
		100		$1,1 \times 10^8$	99,0
	Etil Asetat	20		$1,6 \times 10^9$	87,2
		40*		$2,4 \times 10^9$	98,0
		60		$1,8 \times 10^9$	98,5
		80		$3,0 \times 10^8$	99,8
		100		0	100
	Heksana	20		TBUD	Tidak ada penghambatan
		40		TBUD	Tidak ada penghambatan
		60		TBUD	Tidak ada penghambatan
		80		$2,5 \times 10^9$	79,1
		100		$6,9 \times 10^8$	94,3

Tabel 1. Nilai *Minimum Inhibitor Concentration* ekstrak air, etil asetat dan heksana batang kecombrang

Nilai MIC ekstrak etil asetat batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S. aureus* lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak air dan heksana batang kecombrang. Nilai MIC ekstrak etil asetat batang kecombrang terhadap *E. coli* dan *S. aureus* yaitu pada konsentrasi 20% dan 40%, nilai MIC ekstrak air batang kecombrang terhadap *E. coli* yaitu pada konsentrasi 80% dan *S. aureus* yaitu konsentrasi 40%. Sedangkan pada ekstrak heksana batang kecombrang menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* pada konsentrasi ekstrak yang sangat tinggi yaitu pada konsentrasi 100%.

Perbedaan besar kecilnya penghambatan dari masing-masing pelarut diakibatkan karena adanya perbedaan senyawa aktif yang terlarut dalam masing-masing pelarut. Tingkat kepolaran mempengaruhi penghambatan terhadap sel. Menurut Davidson dan Branen (1993), semakin menurun polaritas (mendekati polar) akan semakin efektif menghambat bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Farag *et al.* (1989) dan Kim *et al.* (1995) juga membuktikan bahwa komponen-komponen minyak atsiri yang bersifat semipolar sampai nonpolar, lebih kuat daya antibakterinya terhadap kelompok bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan karena perbedaan struktur dinding sel bakteri. Pada bakteri Gram positif sebagian besar dinding selnya terdiri dari lapisan peptidolikan dan asam teikoat sehingga mudah dilewati komponen ekstrak yang bersifat hidrofilik (Parhusip, 2006).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Hasil pengujian bakteri menggunakan kertas cakram menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat batang kecombrang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter zona hambat berkisar antara 1-3,5 mm, dimana pada ekstrak etil asetat batang kecombrang memiliki zona hambat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak air (0,73-3,16 mm) dan ekstrak heksana (0,8-1,8 mm) batang kecombrang.
2. Nilai MIC ekstrak etil asetat batang kecombrang yang menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* yaitu pada konsentrasi 20% dan 40%, nilai MIC ekstrak air batang kecombrang yang menghambat pertumbuhan *E. coli* yaitu pada konsentrasi 80% dan *S. aureus* yaitu konsentrasi 40%. Sedangkan pada ekstrak heksana batang kecombrang menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* pada konsentrasi ekstrak yang sangat tinggi yaitu pada konsentrasi 100%.
3. Ekstrak air, etil asetat dan heksana ternyata memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini dapat dilihat dari diameter daya hambat yang terbentuk sangat kecil (≤ 5 mm).

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu mengubah proses ekstraksi maserasi dengan metode destilasi atau penyulingan serta diperlukannya analisis fitokimia yang terdapat pada ekstrak batang kecombrang.

DAFTAR PUSTAKA

- Adityo, R., B. Kurniawan, dan S. Mustofa. 2013. **Uji efek fraksi metanol ekstrak batang kecombrang (*Etlintera elatior*) sebagai larvasida terhadap larva instar III *Aedes aegypti*.** MAJORITY (Medical Journal of Lampung University), Volume 2 (5): 2337-3776.
- Anggraeni, D. 2007. **Aplikasi ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia sp. Horan*) sebagai pengawet mie basah.** Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ajizah, A., Thihana dan Mirhanuddin. 2007. **Potensi Ekstrak Kayu Ulin (*Eusideroxylon zwageri* T. Et B).** Journal of Bioscientie, Volume IV (1) : 37-42.
- Baron, E. J., L. R. Peterson and S. M. Finegold. 1995. **Diagnostic Microbiology.** 9th eds. Bailey and Scott's Publisher. London.
- Branen, A. L. dan P. M. Davidson. 1993. **Antimicrobial in Food.** Marcel Dekker. New York.
- Brooks, G. f., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2005. **Mikrobiologi kedokteran.** Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Carson, C. F. dan T. V. Riley. 1995. **Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*.** J Appl Bacteriol Volume 78: 264-269.
- Cushine, T. P., dan A. J. Lamb. 2005. **Review antimicrobial activity of flavonoids.** International Journal of Antimicrobial Agents, Volume 26 : 343-356.
- Dewi, F. K. 2010. **Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linnaeus) terhadap bakteri pembusuk daging segar.** Skripsi Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Farag, R. S., Z. Y. Daw, F. M. Hewedl dan G. S. A. El-Baroty. 1989. **Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils.** J Food Prot Volume 52(9): 665-667.
- Fardiaz, S. 1989. **Mikrobiologi Pangan.** PAU Pangan dan Gizi Intitut Pertanian Bogor. Bogor
- Hudaya, A. 2010. **Uji antioksidan dan antibakteri ekstrak air bunga kecombrang (*Etlintera elatior*) sebagai pangan fungsional terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.** Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Houghton, P. J., dan Raman. 2006. **Laboratory Handbook for the Fraktionation of Natural Ekstracts.** Chapmsl and Hall. Tokyo.
- Houghton, P. J. dan A. Raman. 1998. **Laboratory Handbook for the Fractination of Natural Extracts.** Thomson Science, London.

- Jaffar, F. M., C. P. Osman, N. H. Ismail dan K. Awang. 2007. **Analysis of essential oils of leaves, stems, flowers and rhizomes of *Etilingera Elatior* (JACK) R. M. Smith.** The Malaysian Journal of Analytical Sciences, Volume 11 : 269-273.
- Jenie, B. S. L. Dan Kuswanto. 1994. **Aktivitas antimikroba dari pigmen angkak yang diproduksi oleh *Monasnr purpuracs* terhadap beberapa mikroba patogen dan perusak makanan.** Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Permi, hal 53-62.
- Kanazawa, A., T. Ikeda dan T. Endo. 1995. **A novel approach o mde of action on cationic biocidec: morphological effect on antibacterial activity.** J Appl Bacterial Volume 78: 55-60 *dalam* R. Naufalin (2005) Kajian sifat antimikroba bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai mikroba patogen dan perusak pangan. Disertasi Program Pascasarjana institute Pertanian Bogor, Bogor.
- Kim, J. M., M. R. Marshal, J. A. Cornel, J. F. Boston dan C. I. Wei. 1995. **Antibacterial activity of carcacrol, citral and geraniols against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cubes.** J. Food Sci Volume 60 (6): 1365-1368.
- Krismawati, A. 2007. **Pengaruh tanaman ceremai, delima putih, jati belanda, kecombrang dan kemuning secara *in vitro* terhadap poliferasi sel limfosit manusia.** Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kusmiyati dan N. W. S. Agustini. 2006. **Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*.** Biodiversitas, Volume 8 : 48-53.
- Kubo, A., C. S. Lunde dan I. Kobo. 1992. **Antimicrobial activity of the olive oil flavor coumpounds.** J Agri Food Chem. Volume 40(6): 999-1003.
- Marliyati, S. A., S. Hidayat, M. Deddy, K. D. Latifah dan Rimbawan. 2005. **Ekstraksi dan analisis fitosterol lembaga gandum (*Triticum* sp).** Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Volume 16 (1) : 1-12.
- Naufalin, R. 2005. **Kajian sifat antimikroba bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai mikroba patogen dan perusak pangan.** Disertasi Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Naufalin, R., H. S. Rukmini, T. Yanto dan Erminawati. 2009. **Formulasi dan produksi pengawet alami dari kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan).** Laporan Penelitian Hibah Kompetensi. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi.
- Ningtyas, R. 2010. **Uji antioksidan, antibakteri**

- ekstrak air daun kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith) sebagai pengawet alami terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Maleki, S., S. M. Seyyednejad, M. N. Damabi and H. Motamedi. 2008. **Antibacterial activity of the fluid of iranian *Torilis leptophylla* againts some clinical pathogen.** Journal of Biological Science. Volume 11 (9): 1286-1289.
- Parhusip, J. N. A. 2006. **Kajian mekanisme antibakteri ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap bakteri patogen pangan.** Disertasi Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Pandoyo, A. S. 2000. **Pengaruh ekstrak tanaman cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit darah tepi manusia secara *in vitro*.** Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Poeloengan, M., Chairul, I. Komaa, S. Salmah dan M. N. Susan. 2006. **Aktivitas antimikroba dan fitokimia dari beberapa tanaman obat.** Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Pratiwi, S. T. 2008. **Mikrobiologi Farmasi.** Erlangga. Jakarta.
- Rahayu, W. P. 1999. **Kajian aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas (*Alpina galangal* L. Swart) terhadap mikroba patogen dan perusak makanan.** Disertasi Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahmawati, A. 2009. **Kandungan fenol total ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*).** Skripsi Fakultas Kedokteran Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Indonesia. Jakarta.
- Rita, W. S. 2010. **Isolasi identifikasi dan uji aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid pada rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe).** Jurnal Kimia, volume 4: 20-26.
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.** Edisi Keenam. Institut Teknologi Bandung Press. Bandung.
- Wisti, A. 2014. **Aktivitas antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari susu kedelai terfermentasi spontan.** Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Riau, Pekanbaru.