

**DAYA HAMBAT RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum*)
TERHADAP *Helicobacter pylori* PENYEBAB TUKAK PEPTIK
DAN GASTRITIS KRONIS**

Wiwied Ekasari¹, Abdul Rahman², Sri Winarsih³

***RESISTIVITY OF RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum*) TO
Helicobacter pylori CAUSING OF TUKAK PEPTIC
AND CHRONIC GASTRITIS.***

Abstract. *The eradication of Helicobacter pylori is important for the treatment of patients with infection of gastrointestinal system. However, there were only a few reports on anti-Helicobacter pylori activity of traditional medicines. The anti-H. pylori activity of n-hexane extract, chloroform extract, etanol extract and fraction of n-hexana of Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum*) was carried out by agar dilution method and chloramphenicol was used as positive control. Prior to assessment, identification of H. pylori by urease, oxidase and catalase tests was done. Only n-hexana extract assayed that inhibit the growth of H. pylori from Malang with Minimal Inhibitory Concentration (MIC) 1.25 mg/ml and no extract or fraction of Lempuyang wangi could inhibited the growth of H. pylori from Mataram.*

Key words : Lempuyang wangi, Helicobacter pylori, Gastritis, Zingiber aromaticum

PENDAHULUAN

Adanya penemuan tentang infeksi dari *Helicobacter pylori* dan keterlibatan bakteri ini terhadap penyakit tukak peptik, kanker gastrik, dan beberapa bentuk dari sindrom dispepsia lainnya telah mengubah pandangan para ilmuwan tentang diagnosa dan pengobatan dari penyakit ini⁽¹⁾. Dengan adanya penemuan tersebut, sekarang banyak dilakukan penelitian, di antaranya dari bahan alam untuk mengobati penyakit tukak peptik dengan terapi antimikroba yang potent terhadap *H. pylori* daripada mengobati pasien dengan biaya mahal dan waktu yang lama dengan terapi penekan pengeluaran asam.

Di Indonesia, bahan alam yang sering dipakai oleh masyarakat untuk mengobati penyakit lambung dan cukup

potensial untuk dikembangkan sebagai antimikroba penghambat infeksi *H. pylori* adalah tanaman dari suku *Zingiberaceae*⁽²⁾. Peneliti telah melakukan skrining aktivitas beberapa tanaman dari suku ini terhadap *H. pylori*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya Lempuyang wangi dengan Kadar Hambat Minimal (KHM): 2,595 mg/ml yang potensial dalam menghambat pertumbuhan *H. pylori*⁽³⁾. Berdasarkan data tersebut, peneliti melanjutkan uji aktivitas penghambatan Lempuyang wangi terhadap *H. pylori* dengan mengekstraksi tanaman ini pada polaritas yang berbeda sehingga diketahui pada polaritas manakah dari tanaman ini yang mempunyai aktivitas paling kuat dan selanjutnya diteruskan dengan fraksinasi dari ekstrak yang paling poten dari tanaman ini sehingga nantinya didapat fraksi yang

¹ Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

² Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

mempunyai daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *H. pylori*.

BAHAN DAN METODA

Bahan dan Alat

Bahan tumbuhan yang dipakai adalah rimpang lempuyang wangi yang berasal dari Batu, Malang, yang dikoleksi pada bulan Juli 2002. Sedang mikroba uji yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang (Isolat Hp 1) dan Rumah Sakit Umum-Mataram (Isolat Hp 2, Hp 3, Hp4 dan Hp 5). Penelitian dilakukan di Laboratorium Botanifarmasi-Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga untuk preparasi bahan tanaman sampai ekstraksi dan fraksinasi. Sedang untuk uji antimikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Brawijaya. Alat-alat yang digunakan adalah vakum evaporator, bejana tertutup, gelas ukur, petridish, inkubator, autoklaf, sengkeli, pipet, sochorex, timbangan analitik, tabung reaksi, *candle jar*.

Penyiapan Bahan Uji Ekstraksi dan Fraksinasi Bahan Coba

Serbuk 150 g dimaserasi selama 3 x 24 jam menggunakan 500 ml n heksana, dimaserasi lagi selama 3 x 24 jam menggunakan 500 ml kloroform. Terakhir ampas dikeringkan dan dimaserasi selama 3 x 24 jam menggunakan 500 ml etanol. Filtrat-filtrat hasil ekstraksi diuapkan dengan rotavapour. Selanjutnya dilakukan uji anti mikroba. Terhadap ekstrak yang mempunyai kadar hambat minimal yang terkecil, dilakukan fraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel 60 dengan fase gerak n-heksane: etanol

(9 : 1) ⁽⁴⁾. Selanjutnya tiap-tiap fraksi tersebut dilakukan uji anti mikroba.

Pembuatan Media Kultur *Helicobacter pylori* ⁽⁵⁾

Media transport dibuat dari 7,25 g tioglikolat yang dilarutkan dalam 250 ml aquadest, dididihkan sampai homogen dan disterilkan dalam autoklaf 121⁰C selama 15 menit.

Media agar darah dibuat dari agar darah base 10 g yang dididihkan dalam 250 ml aquadest sampai homogen, disterilkan dalam autoklaf 121⁰C selama 15 menit. Kemudian didinginkan sampai suhu 45⁰-50⁰ C dan 17,5 ml darah manusia golongan O, suplemen Skirrow 1 ml dan fungzone.

Cara Penanaman Sampai Pengamatan Pertumbuhan

Potongan biopsi lambung diambil dari media transport tioglikolat, ditanam di atas media agar darah. Kemudian dimasukkan ke dalam anaerob jar, diinkubasi pada suhu 45⁰ - 50⁰ C selama 2-5 hari dalam kondisi mikroaerofilik (10% CO₂, 5% O₂ dan 85% N₂). Koloni yang muncul kemudian diuji dengan tes urease, katalase dan oksidase.

Uji Antimikroba

Preparasi mikroba uji dilakukan dengan mengambil 4 atau 5 koloni mikroba hasil pertumbuhan semalam pada media berbasis agar Mueller Hinton. Kemudian dinokulasikan ke dalam 5 ml medium cair Mueller Hinton dan diinkubasi pada anaerobik jar dengan kondisi mikroaerofilik selama 2 x 24 jam pada suhu 37⁰C sampai diperoleh kekeruhan. Kekeruhan kemudian diatur dengan pengenceran agar setara dengan 1 MC Farland (3 x 10⁸ CFU/ml) ⁽⁶⁾.

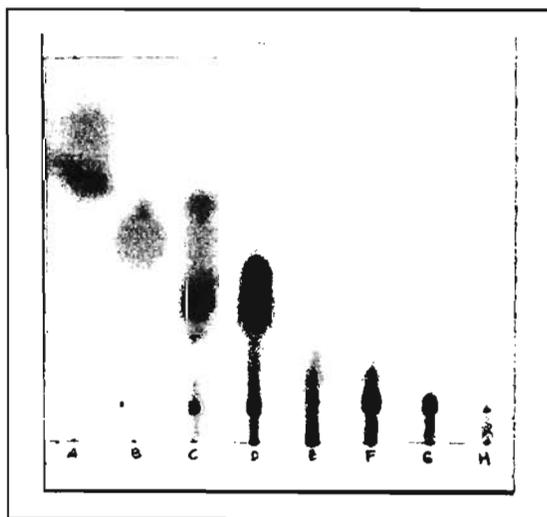
Pelaksanaan uji antimikroba dilakukan dengan menyiapkan sederetan tabung dan dibuat pengenceran dari larutan stok sehingga didapatkan pengenceran 7,5; 5; 2,5; 1,25; 0,625 mg/ml. Kemudian 0,5 ml ekstrak uji dicampurkan dengan 4,5 ml media MH steril dalam cawan petri. Dimasukkan masing-masing 100 µl suspensi mikroba uji (5×10^5 CFU/ml) kedalam semua cawan petri kecuali cawan petri untuk kontrol stering Cawan petri ke 6. Konsentrasi akhir dari mikroba uji adalah: 5×10^4 CFU/ml sedangkan cawan petri ke 7 adalah kontrol negatif/kontrol pelarut (tanpa bahan uji). Sebagai pembanding dipakai antibiotika kloramfenikol 100 µg/ml. Seluruh cawan petri kemudian diletakkan kedalam anaerob jar, diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 2-5 hari dalam kondisi mikro-aerofilik.

HASIL

Semua uji untuk identifikasi terhadap *H. pylori* menunjukkan hasil yang positif untuk *Helicobacter pylori*. Sedang hasil uji aktivitas anti mikroba dari ekstrak n-heksana, ekstrak Kloro-

form dan ekstrak etanol rimpang Lempuyang wangi terhadap isolat *H. cobacter pylori* (Hp1) dari Malang menunjukkan hasil bahwa hanya ekstrak n-heksana yang dapat menghambat dengan KHM 1,25 mg/ml. Selanjutnya dari fraksinasi ekstrak n-heksana menggunakan eluen n-heksana: etanol (9 : 1) berdasarkan kesamaan bercak pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dihasilkan 8 macam fraksi yaitu A, B, C, D, E, F, G dan H (lihat Gambar 1).

Sangat disayangkan ternyata isolat *H. pylori* dari Malang mati dalam penyimpanan. Sehingga skrining uji aktivitas fraksi-fraksi terhadap *H. pylori* digunakan isolat Hp 2. Dari hasil aktivitas masing-masing fraksi tersebut diketahui bahwa hanya fraksi A, B dan D yang masih mempunyai hambatan terhadap pertumbuhan isolat Hp2 dari Mataram. Selanjutnya terhadap fraksi A, B dan D dari ekstrak n-heksana rimpang lempuyang wangi dilakukan pengujian aktivitasnya terhadap berbagai macam isolat *H. pylori* (Hp2, Hp3, Hp4 dan Hp5) dari Mataram (lihat Tabel 1)



Gambar 1. Hasil Kromatogram Lapis Tipis Fraksi-fraksi dari Ekstrak n-Heksana dengan Fase Gerak n-Heksana: Etanol = (9 :1) Memakai Penampak Noda Anisaldehida-Asam Sulfat.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Anti-*Helicobacter pylori* Fraksi A, B dan D dari Ekstrak n-Heksana Rimpang Lempuyang Wangi

Kadar (mg/ml)	Isolat Hp 2			Isolat Hp 3			Isolat Hp 4			Isolat Hp 5		
	A	B	D	A	B	D	A	B	D	A	B	D
Kontrol θ	≈	≈	≈	≈	≈	≈	≈	≈	≈	≈	≈	≈
1	≈	+++	≈	≈	≈	≈	≈	++	++	≈	++	≈
2	≈	+++	≈	≈	++	≈	+++	++	+++	≈	++	≈
4	≈	++	≈	+++	+	≈	++	+	≈	≈	++	≈
kontrol \oplus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

~ = pertumbuhan bakteri tak terhingga,
 (++++ = pertumbuhan bakteri sangat banyak,
 (+++) = pertumbuhan bakteri banyak,

(++) = pertumbuhan bakteri sedang
 (+) = pertumbuhan bakteri sedikit
 (-) = tidak ada pertumbuhan bakteri

PEMBAHASAN

Hasil dari uji aktivitas ekstrak lempuyang wangi didapatkan bahwa ekstrak kloroform dan ekstrak etanol tidak memberikan hambatan sampai dengan kadar 7,5 mg/ml, sedangkan pada ekstrak n-heksana didapatkan harga Kadar Hambatan Minimal (KHM) sebesar 1,25 mg/ml. Sesuai pustaka ⁽⁷⁾, maka yang dinyatakan dapat menghambat pertumbuhan *H. pylori* adalah ekstrak heksana dari Lempuyang wangi.

Selanjutnya dilakukan fraksinasi dari ekstrak heksana ini, untuk mengetahui fraksi mana yang paling poten yang dapat menghambat pertumbuhan *H. pylori* terutama dari Malang (Hp1) dan didapatkan 8 macam fraksi. Sangat disayangkan bahwa isolat *H. pylori* dari daerah Malang mati dalam penyimpanan, karenanya dilakukan uji aktivitas terhadap isolat Hp2 sebagai sampel dari isolat *H. pylori* asal Mataram.

Hasil uji fraksi-fraksi dari ekstrak Lempuyang wangi terhadap isolat Hp2 ternyata hanya ada peningkatan hambatan pertumbuhan pada fraksi A, B, D

dan H namun tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan sempurna sampai kadar 2 mg/ml. Sedangkan fraksi-fraksi yang lain tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan.

Untuk itu selanjutnya dilakukan uji aktivitas antimikroba hanya pada fraksi A, B dan D dari ekstrak lempuyang wangi terhadap isolat Hp1, Hp2, Hp3 dan Hp 4, serta dengan meningkatkan kadar dari zat uji untuk mengetahui KHM nya. Hasil uji ini ternyata hanya ada peningkatan hambatan pertumbuhan bakteri, namun tidak dapat menghambat dengan sempurna pertumbuhan *H.pylori* sampai dengan kadar 4 mg/ml.

Berbagai variasi daya hambat ekstrak dan fraksi dari lempuyang wangi hasil penelitian ini dimungkinkan karena isolat *H. pylori* yang digunakan berasal dari daerah yang berbeda, sehingga dimungkinkan masing-masing bakteri tersebut mempunyai resistensi yang berbeda pula terhadap bahan yang sama. Dilaporkan bahwa hasil dari uji resistensi isolat *H. pylori* dari daerah Malang sebesar 84,6%, sedangkan dari Bali sebesar 14,3 % dan dari Mataram sebesar 96,8 % ⁽⁸⁾.

Terjadinya pola resistensi yang berbeda pada tiap wilayah ini antara lain terutama disebabkan oleh kebiasaan masyarakat menggunakan antibiotika tanpa pengawasan dokter. Hal ini didukung pula oleh hasil penelitian dari Israel ⁽⁵⁾, yang meneliti aktivitas ekstrak cinnamomi terhadap isolat *H. pylori* dari 7 pasien, didapatkan hasil bahwa pada bahan dengan dosis yang sama ternyata menghasilkan KHM yang berbeda untuk tiap isolat *H. pylori*. Karena itu menjadi dapat dimengerti apabila hasil uji dari ekstrak lempuyang wangi ini menjadi bervariasi.

Mitscher telah melakukan skrining terhadap ekstrak-ekstrak yang diperoleh dari 129 marga tumbuhan tinggi dan menemukan bahwa dari 338 spesies hanya 26% yang menunjukkan aktivitas antimikroba dengan rincian 15% aktif terhadap *Staphylococcus aureus* (Gram positif), 7% aktif terhadap *Candida albicans* (jamur) dan kurang dari 1% yang aktif terhadap *Escherichia coli* (Gram negatif). Ini menunjukkan bahwa ternyata ekstrak tumbuhan lebih banyak mempunyai aktivitas antimikroba terhadap Gram positif daripada Gram negatif ⁽⁹⁾. Hal di atas didukung pula oleh hasil penelitian Hoffmann yaitu dari sejumlah ekstrak yang memiliki aktivitas anti-mikroba (hasil skrining 300 spesies tumbuhan), didapatkan 55% aktif terhadap *B. subtilis* (Gram positif), 20% aktif terhadap *S. aureus* (Gram positif), 12% aktif terhadap *C. albicans* (jamur) dan hanya 4 % yang aktif terhadap *Klebsiella pneumoniae* (Gram negatif) ⁽¹⁰⁾.

Berdasarkan data-data tersebut, ditambah pula dengan adanya fakta bahwa bakteri *H. pylori* mempunyai mekanisme kerja yang berbeda dengan bakteri lainnya, yang dibuktikan dengan kemampuannya untuk dapat tumbuh pada lingkungan yang sangat asam, di mana

sebagian besar mikroorganisme lainnya mati pada lingkungan ini maka tidak adanya aktivitas ekstrak dan fraksi dari lempuyang wangi terhadap isolat *H. pylori* dari RSUD Mataram namun dari ekstrak n-heksana lempuyang wangi mempunyai KHM 1,25 mg/ml untuk isolat *H. pylori* dari daerah Malang dapatlah dipahami.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hanya ekstrak n-heksana Lempuyang wangi yang dapat menghambat pertumbuhan isolat *Helicobacter pylori* dari Malang dengan KHM 1,25 mg/ml. Sedang semua ekstrak dan fraksi dari rimpang lempuyang wangi tidak dapat menghambat sempurna aktivitas pertumbuhan isolat *Helicobacter pylori* dari Mataram.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI, atas bantuan dana penelitian yang diberikan melalui Program RISBINKES V Tahun 2002.

DAFTAR RUJUKAN

1. Dooley CP. Background & Historical Considerations of *Helicobacter pylori*, Gastroent. Clin. N. Amer 1993; 22 (1) 1-4.
2. Heyne K. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid I. Yayasan Sarana Wana Jaya, Departemen Kehutanan RI ., Jakarta 1987: 568-595.
3. Wiwied E, Abdul R., Sri W. Uji Anti *H. pylori* dari Ekstrak Metanol Beberapa Rimpang Tanaman Suku Zingiberaceae. DIK Supp. Lembaga Penelitian Unair. Surabaya. 2000.

4. Zaini NC, Indrayanto G., Skrining Fito-kimia. Fakultas Farmasi Unair. Surabaya. 1978.
5. Tabak M, Armon R, Neeman I. Cinnamon Extract Inhibitory Effect on *Helicobacter pylori*. Journal of Ethnopharmacology 1999 ; 67 : 269- 277.
6. Sahm D.F., Washington II J.A. Antibacterial Susceptibility Test : Dilution Methods, in : Balows, A., (ed), Manual of Clinical Microbiology, 5th ed, American Society for Microbiology, Washington DC 1991.
7. Bae EA., Han MJ, Kim DH. Anti *Helicobacter pylori* Activity of Herbal Medicines. J. Biol. Phar. Bull 1998; 21 (9) : 990- 992.
8. Harijono A. Pola Uji Resistensi In Vitro Isolat *H. pylori* dari Daerah Malang Terhadap Antibiotika Di RSSA Malang-Indonesia. Pharos Bulletin 1996; No. 3. Hal 3-7.
9. Mitscher LA, Drake S, Gollapudi SR and Okwute K. A Modern Look at Folkloric Use of Anti-infection Agents. J. of Natural Products 1987 ; 50 : 6, 1025-1040.
10. Hoffmann JJ, et al. Potential Antimicrobial Activity of Plants from the Southwestern United States. International Journal of Pharmacognosy 1993; 31: 2, 101-115.