



**PROFIL KROMATOGRAM DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
EKSTRAK ETANOL RIMPANG LEMPUYANG EMPRIT  
( *Zingiber americans Bl.* ) TERHADAP BAKTERI  
*ESCHERICHIA COLI* IN VITRO**

**Artikel Karya Tulis Ilmiah**

Disusun untuk memenuhi tugas dan  
memenuhi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana  
Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

**Naila Karima**

**NIM : G2A003125**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2007**

## Halaman Pengesahan

Artikel karya tulis ilmiah ini telah dipertahankan dihadapan tim penguji karya tulis ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang pada tanggal 31 Juli 2007 dan telah diperbaiki sesuai saran yang diberikan.

Semarang , Agustus 2007

Penguji,

Pembimbing,

dr. Kis Djamiatun MSc

dr. Aryoko Widodo

NIP.131 416 041

NIP.132 163 897

Ketua Penguji,

dr. Noor Wijayahadi, M Kes PhD

NIP.132 149 104

***Chromatogram profile and Antibacterial Activity of Zingiber americans Bl for Escherichia coli in vitro***

***Naila Karima\*, Aryoko Widodo\*\****

***ABSTRACT***

***Background*** : *Zingiber americans* is a well known advantagous herbal, containing atsiri oil that may be antibacterial. The purpose of this study was to know chromatogram profile and antibacterial activity of zingiber americans Bl for *Escherichia coli* in vitro.

***Method*** : This study were descriptive study and experimental study using the “post test only control group design”. In descriptive study, the sample was extract of *Zingiber americans* Bl and the sample of experimental study was *E.coli* with standard strain ATCC 25922. The method used was thin layer chromatography on which the extract were put a drop on chromatograph plate then the chromatograph plate was put in close erlemeyer with developing liquid and antibacterial activity test uses dilution method, these were divided into 5 test groups with concentrations 100% v/v, 50% v/v, 25% v/v, 12,5% v/v, 6,25% v/v and 4 control groups were positive control, negative control, sample control, and control PG5%.

***Result*** : The results of analysis using thin layer chromatography was found 6 spots. The result of antibacterial activity, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) significant from the concentration 25% v/v ( $p=0,001$ ) and Minimum Baktericidal Concentration (MBC) significant from the concentration 50% v/v ( $p=0,021$ ).

***Conclusions*** : The results of antibacterial activity test were bacteriostatic and bacterisidal for *E.coli*. MIC for *E.coli* was 25 % v/v. MBC for *E.coli* was 50% v/v.

*Keywords* : *Zingiber americans* Bl, *Escherichia coli*, antibacterial activity, MIC (Minimum Inhibitory Concentration), MBC (Minimum Bactericidal Concentration).

\* Student, Medical Faculty, Diponegoro University

\*\* Lecturer, Medical Chemistry Department, Diponegoro University

## Profil Kromatogram Dan Aktivitas Antibakteri ekstrak etanol rimpang Lempuyang empريت terhadap *Escherichia coli* in vitro

Naila Karima\*, Aryoko Widodo\*\*

### ABSTRAK

**Latar Belakang** : Lempuyang empريت (*Zingiber americans Bl*) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Minyak atsiri yang terdapat didalamnya diduga mempunyai aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana profil kromatogram dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang lempuyang empريت terhadap *Escherichia coli* secara in vitro.

**Metode** : Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dan penelitian eksperimental dengan rancangan "post test only control group design". Pada penelitian deskriptif, sampel penelitian adalah ekstrak etanol rimpang lempuyang empريت dan pada penelitian eksperimental, sampel penelitian adalah *E.coli* dengan strain standard ATCC 25922. Metode yang digunakan adalah kromatografi lapis tipis dimana ekstrak ditotolkan pada pelat kromatograf dimasukkan ke dalam bejana tertutup yang berisi larutan pengembang dan uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi cair, di bagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan konsentrasi 100% v/v, 50% v/v, 25% v/v, 12,5% v/v, 6,25% v/v dan 4 kelompok kontrol yaitu kontrol positif, kontrol negatif, kontrol sampel, kontrol PG 5%.

**Hasil** : Hasil analisis menggunakan profil kromatografi lapis tipis terdapat 6 bercak warna. Hasil uji aktivitas antibakteri untuk Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol rimpng lempuyang empريت terhadap *E.coli* didapatkan perbedaan bermakna mulai dari konsentrasi 25% v/v dengan  $p=0,001$ . Dan pada Kadar Bunuh Minimum (KBM) didapatkan perbedaan bermakna mulai dari konsentrasi 50 % v/v dengan  $p=0,0021$ .

**Kesimpulan** : Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa *Zingiber americans Bl* memiliki sifat bakteristatik dan bakterisid terhadap *E.coli*. KHM *Zingiber americans Bl* terhadap *E.coli* adalah 25 % v/v. KBM *Zingiber americans Bl* terhadap *E.coli* adalah 50 % v/v.

Kata kunci : *Zingiber americans Bl*, *Escherichia coli*, aktivitas antibakteri, KHM (Kadar Hambat Minimum), KBM (Kadar Bunuh Minimum).

\* Mahasiswa semester VIII Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

\*\* Staf Pengajar Bagian Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## PENDAHULUAN

Pemanfaatan tanaman obat sebagai pengobatan alternatif akan semakin meningkat. Hal ini antara lain disebabkan harga obat-obat modern yang semakin mahal sehingga tidak dapat dijangkau oleh kalangan menengah ke bawah dan juga kecenderungan masyarakat dunia untuk kembali ke alam “*back to nature*”. Selain itu obat tradisional dinilai lebih efektif, aman, dan ekonomis. Oleh karena itu, pemanfaatan bahan alam untuk pengobatan termasuk tanaman, perlu dilakukan pembuktian secara ilmiah untuk mengetahui khasiat dan keamanannya.

Salah satu tanaman obat yang dimanfaatkan dalam bidang pengobatan adalah lempuyang emprit (*Zingiber americans Bl*). *Zingiber americans* termasuk dalam suku zingiberaceae. Tanaman ini oleh masyarakat digunakan sebagai penambah nafsu makan, mencret, sakit perut, badan penat, asma, mencegah kehamilan. Kandungan senyawa kimia tanaman ini adalah minyak atsiri, saponin, flavonoid. Golongan senyawa-senyawa ini sering digunakan sebagai bahan dasar obat. Sebagai contoh saponin merupakan senyawa yang bersifat anti kanker, senyawa flavonoid bersifat antioksidan. Minyak atsiri yang berasal dari *Curcuma mangga Val. E Zipp*, mempunyai aktivitas sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.<sup>1,2,3</sup>

*Escherichia coli* adalah bakteri batang gram negatif yang merupakan flora normal usus manusia yang dapat menyebabkan infeksi saluran cerna dan jaringan tubuh lain diluar usus seperti infeksi saluran kemih, meningitis, septikemia, peritonitis, mastitis, dan pneumonia. *E coli* merupakan bagian dari *faecal coliform*. Keberadaannya dalam air dapat menjadi indikator adanya pencemaran air oleh tinja. Tercemarnya air akan berpengaruh pada makanan dan minuman yang dikonsumsi manusia yang dapat menimbulkan penyakit.<sup>4,5</sup>

Permasalahannya adalah bagaimana profil kromatogram dan berapa kadar *Zingiber americans Bl* yang dapat menghambat dan atau membunuh *Escherichia coli*?

Berdasar latar belakang dan perumusan masalah yang ada, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil kromatogram dan mengukur aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan *Zingiber americans Bl* yang memiliki efek antibakteri terhadap *E.coli* dan menjadi pertimbangan masyarakat dalam menggunakannya sebagai antibiotik.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif dan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Pada penelitian deskriptif sampel penelitian adalah ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit yang diperoleh dari Semaken, Banjararum, Kalibawang, Kulon Progo, Yogyakarta. Metode ekstraksi yang digunakan maserasi dengan berat basah lempuyang emprit 2.732 gram dan pelarut etanol 70%, hasil ekstrak lempuyang emprit 43,3 gram. Sampel penelitian eksperimental berupa kuman *Escherichia coli* strain standard (ATCC 25922) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FK UNDIP Semarang. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Mikrobiologi FK UNDIP Semarang.

Penelitian ini menggunakan metode kromatografi lapis tipis dan metode dilusi. Pada metode kromatografi lapis tipis, ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit dilarutkan di dalam etanol absolut, ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT), dimasukkan kedalam bejana pengembang yang berisi larutan etil asetat,

dieluasi sampai batas tertentu. Kemudian lempeng KLT diangkat dan dibiarkan mengering, diamati di bawah sinar Ultraviolet 254 nm dan 365 nm, bercak yang nampak dihitung jumlahnya. Jumlah bercak menggambarkan jumlah komponen senyawa yang terdapat didalamnya.<sup>6</sup>

Pada metode dilusi dibagi menjadi 9 tabung, tabung 1-5 untuk perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang lempuyang empurit 100% v/v, 50%v/v, 25%v/v, 12,5%v/v, 6,25%v/v dengan interval pengenceran 2 kali. Pada kelompok 1 diisi dengan 2 mg/ml ekstrak etanol rimpang lempuyang empurit ditambah bubuk Mueller Hinton. Tabung 2-5 diisi 1ml Mueller Hinton cair, kemudian 1ml larutan tabung dari tabung 1 dipindahkan ke tabung 2, 1 ml larutan tabung 2 dipindahkan ke tabung 3 dan seterusnya sampai tabung 5. Kemudian tabung 1-5 ditambah 0,1 ml suspensi bakteri. Tabung 6 untuk kontrol sterilitas sampel ekstrak, tabung 7 untuk kontrol negatif (suspensi bakteri dalam Mueller Hinton cair ditambah formalin), tabung 8 untuk kontrol positif (suspensi bakteri dalam Mueller Hinton cair), tabung 9 untuk kontrol pelarut (PG 5%).

Masing-masing kelompok diatas dilakukan pengulangan sebanyak 7 kali percobaan (7 tabung). Kesemua tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati, dibandingkan dengan kontrol. Larutan sampel terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan kejernihan secara visual ) ditentukan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) / *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

Untuk mengetahui Kadar Bunuh Maksimal (KBM) / *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC), larutan tadi digoreskan pada media Mc Conkey agar. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. MBC ditentukan pada konsentrasi terkecil dimana pada media tidak terdapat pertumbuhan koloni kuman.

Data yang dikumpulkan adalah data primer hasil pengamatan tingkat kejernihan secara visual media Mueller Hinton cair dan hasil pertumbuhan koloni kuman pada Mac Conkey agar, dengan menganalisis 5 kelompok perlakuan dan 4 kelompok kontrol. Pada penelitian ini variabel bebasnya adalah dosis ekstrak etanol rimpang lempuyang empurit dan variabel tergantungnya adalah tingkat pertumbuhan kuman (skala nominal) dengan kriteria negatif (-) bila tidak terdapat pertumbuhan koloni kuman dan positif (+) bila terdapat pertumbuhan koloni kuman.

Pengolahan data dilakukan dengan cara menyunting, mengelompokkan dan tabulasi secara manual. analisis data dengan uji *Chi square*. *SPSS 15,0 for windows*.

## HASIL

Tabel 1. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak *Zingiber americans Bl.*

Rf	Warna
0,42	Kuning*
0,55	Kuning*
0.59	Coklat*
0,65	Hijau**
0.70	Kuning*
0,77	Kuning*

\*warna terlihat pada spektrofotometri 254 nm.

\*\* warna terlihat pada spektrofotometri 365 nm.



Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) *Zingiber americans Bl* terhadap *E.coli* strain standard (ATCC 25922)

Percobaan	Konsentrasi larutan ekstrak (% v/v)					K PG5%	K+	K-	KS
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%				
1	-	-	-	-	+	-	+	-	-
2	-	-	-	+	+	-	+	-	-
3	-	-	-	-	+	-	+	-	-
4	-	-	-	-	+	-	+	-	-
5	-	-	-	+	+	-	+	-	-
6	-	-	-	+	+	-	+	-	-
7	-	-	-	+	+	-	+	-	-

Keterangan :

KS : Kontrol sterilitas sampel ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit.

K PG5% : Kontrol sterilitas pelarut

K- : Kontrol negatif

K+ : Kontrol positif

+ : keruh

- : jernih

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri yang menunjukkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) *Zingiber americans Bl* terhadap *E.coli* strain standard (ATCC25922)

Percobaan	Konsentrasi larutan ekstrak (% v/v)					K PG5%	K+	K-	KS
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%				
1	-	-	-	+	+	-	+	-	-
2	-	+	+	+	+	-	+	-	-
3	-	-	-	-	+	-	+	-	-
4	-	-	+	+	+	-	+	-	-
5	-	-	+	+	+	-	+	-	-
6	-	-	+	+	+	-	+	-	-
7	-	+	+	+	+	-	+	-	-

Keterangan :

KS : Kontrol sterilitas sampel ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit.

K PG5% : Kontrol sterilitas pelarut

K- : Kontrol negatif

K+ : Kontrol positif

+ : terdapat pertumbuhan bakteri

- : tidak terdapat pertumbuhan bakteri

## PEMBAHASAN

Kromatografi Lapis Tipis merupakan salah satu metode identifikasi awal untuk menentukan kemurnian senyawa yang ditemukan atau dapat menentukan jumlah senyawa dari ekstrak kasar. Dari hasil penelitian kromatografi lapis tipis ekstrak lempuyang emprit dengan pelarut ekstraksi etanol 70%, menggunakan pengembang etil asetat dan penampak bercak sinar UV 254, 365 nm terlihat adanya 6 bercak warna dengan jarak antar bercak yang berdekatan. Pada panjang gelombang 254 nm terdapat 5 bercak berwarna kuning, kuning, coklat, kuning, kuning, dengan Rf masing-masing 0,42, 0,55, 0,59, 0,70, 0,77 dan pada panjang gelombang 365 nm terdapat 1 bercak berwarna hijau dengan Rf 0,65. Warna hijau menunjukkan golongan flavonoid hanya terlihat pada sinar UV 365 hal ini disebabkan karena pada sinar UV 254 memedamkan fluoresensi. Warna coklat menunjukkan golongan steroid, asam organik dan terpen.<sup>6,7</sup>

Lempuyang emprit mengandung senyawa minyak atsiri, saponin, dan flavonoid yang dapat bermanfaat sebagai antibakteri, antikanker dan antioksidan. Pada penelitian terdahulu *Curcuma mangga Val. E Zijp* dan ekstrak daun jambu biji yang mengandung minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.<sup>1,2,8</sup>

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi, lempuyang emprit menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*. Hasil uji *Chi square* pada Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) tidak memenuhi syarat karena nilai expectednya kurang dari lima ada 100%, oleh karena itu yang dipakai adalah uji *Fisher*. KHM lempuyang emprit terhadap *E.coli* diperoleh

perbedaan bermakna mulai dari konsentrasi 25 % v/v  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol positif. KBM diperoleh perbedaan bermakna mulai konsentrasi 50% v/v  $p=0,021$  ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol positif. Karena memiliki KHM dan KBM, maka Lempuyang emprit diperkirakan bersifat bakteriostatik dan bakterisidal.<sup>9</sup>

## **KESIMPULAN**

1. Lempuyang mempunyai aktivitas terhadap aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*.
2. KHM lempuyang emprit terhadap *E.coli* adalah 25% v/v dan KBM lempuyang emprit terhadap *E.coli* adalah 50% v/v.

## **SARAN**

1. perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan zat aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri.
2. perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri kuman patogen lain.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dr. Aryoko Widodo atas bimbingannya, dr. Noor Wijayahadi, M Kes. PhD dan dr Kis Djamiatun MSc sebagai penguji, seluruh staf Laboratorium Kimia dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, serta keluarga dan teman-teman yang telah mendukung penulis secara moral maupun material.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Arief Hariana. Tumbuhan obat dan Khasiatnya. Seri 2. Bogor:Penebar Swadaya;2005;88-90
2. Azis Ikhsanudin, Nurfina A, Susi I. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri *Curcuma mangga*, *Val. etZipp.* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya. Surabaya. 2002;84 – 90.
3. Amelia .Fitokimia Komponen Ajaib Cegah PJK, DM dan Kanker. Available form URL:  
<http://www.Kimianet.lipi.go.id/utama.cgi?artikel&11003943&2-19k>.  
Diakses tanggal 25 Januari 2007.
4. Jawetz, Melnick, Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran, 20<sup>th</sup> ed, EGC;1996
5. Anonymous. *Escherichia coli*. Available from URL :  
<http://en.Wikipedia.org/wiki/E.coli>.Diakses tanggal 18 Januari 2007.
6. Egon stahl. Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. ITB. Bandung.1985.
7. Bobit JM, 1963. Thin Layer Chromatography. Reinhold Publishing Co., New York. 1963, 207.
8. Sri Hartinah,dkk. Khasiat dan Produk Olahan Jambu Biji. Available from URL : <http://www.pdii.lipi.go.id/wp-content/uploads/2007/07/432006-jamb.pdf>.
9. Katzung, Bertram G. Farmakologi Dasar dan Klinik. Jakarta. EGC. 1997;699