

## In Vitro Antibakteri Ekstrak Etanol Puni (*Zingiber zerumbet*) Asal Pulau Timor

Origenes Boy Kapitan<sup>a</sup>, Laksmi Ambarsari<sup>b</sup> dan Syamsul Falah<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Fakultas Pertanian, Universitas Timor, Kefamenanu, TTU – NTT, Indonesia.

<sup>b</sup>Pusat Penelitian Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.

<sup>c</sup>Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.

### Article Info

#### Article history:

Received 8 Januari 2017

Received in revised form 20 Februari 2017

Accepted 9 Maret 2017

#### Keywords:

Antibacterial activity

Extraction

Puni

Wild Ginger

*Zingiber zerumbet*

### Abstrak

Puni (*Zingiber zerumbet*) is a wildy grown plant that used by Timorese people to treat ulcerative lesions in Timor Island. This study aims to determine the antibacterial activity of plants extracts and know the content of active compounds on the most active extracts of plants. Extraction of active compounds was carried out using four solvent ie n-hexane, ethyl acetate, ethanol, and aqueous solvent. Antibacterial activity test was done using the diffusion method of the four crude extract and extract with the highest activity was then used to find MIC value. Analyzed the content of the active compounds using LC-MS. It was found that ethanol extract had the highest antibacterial activity compared to other extracts. The MIC value of ethanol extract against *S. aureus*, *B. Subtilis*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* were respectively determined to be 50, 100, 150, 250 mg mL<sup>-1</sup>. The result of LC-MS analysis showed that the ethanol extract contained zerumbone and gingerlycolipid B. ©2017 Published by Savana Cendana.

## 1. Pendahuluan

Tanaman Zingiberaceae mempunyai sifat aromatik dan efek farmakologis yang dipengaruhi oleh senyawa-senyawa metabolit sekunder pada rimpangnya (Voravuthikuncai *et al.* 2006). Salah satu anggota Zingiberaceae yang menjadi daya tarik bagi para peneliti dunia karena beragamnya potensi pengobatan yang dikandung adalah *Zingiber zerumbet* (L.) Smith (Singh *et al.* 2012). Tanaman ini tersebar di wilayah Asia Selatan, Asia Tenggara, Pasifik dan Oceania (Kress, *et al.* 2002; Kress, 2014). Di Indonesia, tanaman ini dikenal dengan sebutan lempuyang dan tersebar di wilayah Sumatra, Jawa dan Kalimantan. Tanaman ini tumbuh dan diduga tersebar secara merata di pulau Timor serta hidup secara liar. Penduduk setempat mengenal tanaman ini dengan nama puni. Secara empirik, masyarakat di pulau Timor hanya memanfaatkan tanaman ini dalam penyembuhan luka borok secara topikal, sementara itu di beberapa daerah yang lain tanaman ini dimanfaatkan baik dalam kondisi ekstrak segar maupun ekstrak rebusan sebagai pembersih darah, obat disentri, nyeri perut, batu ginjal, sakit kuning, antelmintik, luka, obat borok, bisul, penurunan bengkak, dan gatal-gatal, serta pereda nyeri (Sinaga *et al.* 2011).

Luka adalah kerusakan fisik akibat dari terbukanya atau hancurnya kulit yang menyebabkan ketidakseimbangan fungsi dan anatomi kulit normal. Terbukanya kulit mengakibatkan serangan mikroorganisme pada jaringan dan mengakibatkan infeksi. Infeksi lokal pada luka menjadi salah satu penyebab luka kronis sehingga membutuhkan waktu yang lama untuk proses penyembuhannya. Infeksi ini juga menjadi alasan terkuat bagi kegagalan proses penyembuhan luka. Beberapa organisme penginfeksi yang teridentifikasi adalah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium sp.*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Nagori dan Solanki, 2011).

Voravuthikuncai *et al.* (2006) melaporkan bahwa *Z. zerumbet* yang berasal dari Thailand diketahui efektif dalam menghambat bakteri *S. aureus* dengan nilai konsentrasi hambat tumbuh minimum (KHTM) sebesar 0.79 mg mL<sup>-1</sup>. Sari *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak segar *Z. zerumbet* asal Sumatra Barat mempunyai aktivitas antimikrob dengan daya hambat berturut-turut sebesar 9.13 mm; 9.20 mm; dan 9.60 mm ketika diujikan pada mikro uji *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*. Uji antimikrob ekstrak kasar etanol terhadap 30 jenis patogen dan 3 jenis jamur menunjukkan bahwa tanaman *Z. zerumbet* asal wilayah Bangladesh mempunyai kemampuan yang sangat potensial sebagai antimikrob dengan kemampuan hambat sebesar 6-10 mm (Kader *et al.* 2011).

Kemampuan aktivitas antibakteri tanaman disebabkan oleh kandungan metabolit sekundernya yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tumbuh tanaman. Secara empiris penggunaan rimpang *Zingiber zerumbet* oleh masyarakat di Timor dalam mengobati luka borok menjadi menarik untuk dikaji. Kondisi wilayah Pulau Timor yang kering dengan iklim semi arid membuat peneliti menduga adanya aktivitas senyawa-senyawa kimia aktif (metabolit sekunder) yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab luka borok.

## 2. Metode

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2014 sampai Juli 2015 di Laboratorium Biokimia, Departemen Biokimia IPB dan Laboratorium Bakteriologi, Divisi Mikrobiologi Medik FKH IPB. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang *Zingiber zerumbet* segar yang dikoleksi pada bulan Juni dari wilayah Amarasi, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur. Untuk bakteri uji digunakan bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Bahan pendukung yang digunakan antara lain aquadest, alkohol 70%, Fosfomisin (*fosfomycin*), n-heksana, etil asetat, etanol 96%, dimetilsulfoksida (DMSO), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), dan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Alat yang digunakan adalah timbangan digital (ACIS), *blender*, *magnetic stirrer*, rotavapor, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, pipet, gelas ukur, batang pengaduk, jarum ose, *vortex mixer* XH-D, autoklaf (N-Biotech. Inc), inkubator (Firlabo), *shaker* (N-Biotech. Inc), LCMS (Qmicro

QAA 642), jangka sorong (Varnier), pipet mikroliter (Gilsong), *laminar air flow* (ESCO), pembakar Bunsen, dan perforator.

Sampel diidentifikasi oleh Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, LIPI-Bogor. Ekstraksi rimpang *Z. zerumbet* menggunakan metode maserasi. Sampel dihaluskan dengan digiling menggunakan *blender*, selanjutnya diayak menggunakan ayakan berukuran 40 mesh. Sebanyak 50 gram simplisia diekstraksi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol masing-masing sebanyak 150 mL selama 24 jam pada suhu ruang, sedangkan untuk pelarut akuades dilakukan pemanasan dengan suhu = 80°C selama 2 jam. Filtrat hasil maserasi disaring dan dipekatkan dengan rotavapor vakum pada suhu 60°C.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar (sumuran) dengan merujuk pada metode Kader *et al.* 2011. Bakteri-bakteri patogen Gram negatif (*E. coli* dan *P. Aeruginosa*) dan Gram positif (*S. aureus* dan *B. subtilis*) diperoleh dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Inokulan bakteri ditumbuhkan pada media *Nutrien Agar* (NA) (OxoidTM). Biakan bakteri kemudian diencerkan dengan NaCl 0.85% menggunakan metode McFarland 0.5 (setara dengan 10<sup>8</sup> CFU mL<sup>-1</sup>). Sebanyak 0.1 mL masing-masing suspensi bakteri yang telah diencerkan kemudian dicampurkan ke dalam 20 mL media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) (OxoidTM) suhu ± 45°C. Setelah memadat, media dilubangi dengan *cork borer* berdiameter 5.3 mm. Sebanyak 50 µL dari masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam sumuran. Uji aktivitas antibakteri masing-masing ekstrak dilakukan pada konsentrasi 500 mg mL<sup>-1</sup>. Fosfomisin 0.4 mg mL<sup>-1</sup> digunakan sebagai kontrol positif dan akuades steril sebagai kontrol negatif. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terlihat di sekeliling lubang menjadi petunjuk adanya aktivitas antibakteri dan merupakan zona hambat dari ekstrak tanaman *Z. zerumbet*. Zona bening tersebut kemudian diukur menggunakan jangka sorong.

Ekstrak yang menunjukkan aktivitas terbaik kemudian diukur nilai konsentrasi hambat tumbuh minimum (KHTM). Pengujian KHTM dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan prosedur sama seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Penentuan KHTM dilakukan dengan membuat konsentrasi yang bervariasi yaitu 5, 10, 25, 50, 100, 150, dan 250 mg mL<sup>-1</sup>.

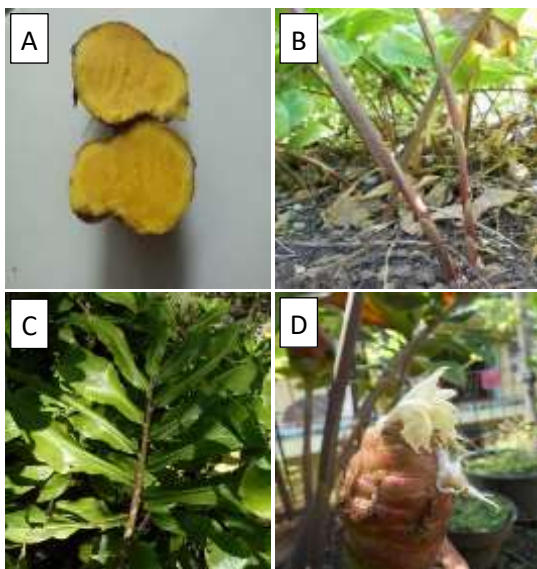
Ekstrak dengan aktivitas antibakteri terbaik selanjutnya diuji fitokimia untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa bioaktifnya. Uji ini meliputi uji fenolik hidrokuinon, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan triterpenoid-steroid, (Harborne, 1996).

Analisis kandungan senyawa yang terkandung pada ekstrak teraktif dilakukan menggunakan *Liquid chromatography mass spectra* (LCMS) di Laboratorium Kesehatan Daerah DKI Jakarta. Spesifikasi instrumen yang digunakan adalah Qmicro QAA 642, dengan *ion mode* adalah ES<sup>+</sup>. Pelarut yang digunakan adalah metanol dan air dengan perbandingan 10:90 (v/v) dengan laju alir 0.20 mL mnt<sup>-1</sup>, dan temperatur kolom sebesar 40°C. Analisis kromatogram massa molekul ion puncak senyawa-senyawa terkandung dilakukan menggunakan database dari *The Human Metabolome Database* (HMDB).

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1 Identifikasi Tumbuhan

Berdasarkan hasil identifikasi, identitas sampel tumbuhan adalah *Zingiber zerumbet* (L.) Sm., famili Zingiberaceae. Morfologi tanaman ini ditampilkan pada Gambar 1. *Z. zerumbet* merupakan tanaman semak berumur tahunan (*terna perennial*). Tanaman ini tumbuh di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1200 m di atas permukaan laut. Berdasarkan klasifikasi botaninya, tanaman ini termasuk ke dalam divisi Spermatophyta, subdivisi Angiospermae, kelas Monocotyledonae, bangsa Zingiberales, suku Zingiberaceae, genus *Zingiber*, spesies *Zingiber zerumbet*.



Gambar 1. Tanaman *Z. zerumbet*: A. Rimpang; B. Batang; C. Daun; D. Bunga

### 3.2 Rendemen Ekstrak

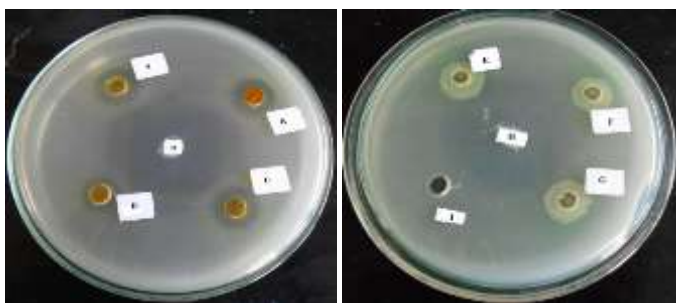
Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara bobot ekstrak yang dihasilkan dengan bobot sampel awal yang diekstrak. Persentasi rendemen ekstrak pada Tabel 1, memperlihatkan kemampuan pelarut air lebih besar dalam mengekstraksi komponen aktif tanaman *Z. zerumbet*, diikuti oleh pelarut etanol, etil asetat dan N-heksana.

Tabel 1 Persentasi rendemen ekstrak

Pelarut	Bobot sampel (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%b/b)
n-Heksana	200	6.30	3.15
Etil Asetat	200	7.60	3.80
Etanol	100	6.20	6.20
Air	150	10.4	6.90

### 3.3 Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, Etanol, dan Air

Ekstrak *Z. zerumbet* dinyatakan mempunyai aktivitas antibakteri jika terbentuk zona bening di sekeliling sumuran berisi ekstrak yang ditumbuhkan pada media yang telah diinokulasi oleh bakteri (Gambar 2.).



Keterangan: A: Konsentrasi ekstrak uji sebesar 250 mg mL<sup>-1</sup>; B. Konsentrasi ekstrak sebesar 150 mg mL<sup>-1</sup>; C. Konsentrasi ekstrak sebesar 100 mg mL<sup>-1</sup>; D. Konsentrasi ekstrak sebesar 50 mg mL<sup>-1</sup>; E. Konsentrasi ekstrak sebesar 25 mg mL<sup>-1</sup>; F. Konsentrasi ekstrak sebesar 10 mg mL<sup>-1</sup>; G. Konsentrasi ekstrak sebesar 5 mg mL<sup>-1</sup>; H. Kontrol positif; I. Kontrol negatif

Gambar 2. Zona bening yang terbentuk pada ekstrak etanol tanaman *Z. zerumbet* ketika diuji terhadap bakteri *S. aureus*

Diameter hambat merupakan ukuran kekuatan hambatan substansi antibakteri. Lebar nya diameter zona bening yang terbentuk ditentukan oleh konsentrasi senyawa yang menjadi dasar pengujian kuantitatif dan mengindikasikan bahwa senyawa tersebut bisa bebas berdifusi ke seluruh medium. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *Z. zerumbet* dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki diameter hambat yang lebih besar dibanding ekstrak n-Heksan, etil asetat, dan air.

Tabel 2 Hasil uji aktivitas antibakteri

Ekstrak	Diameter zona hambat (mm) pada bakteri			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
N-Heksana	3.45 (R)	4.40 (R)	14.14 (I)	7.98 (R)
Etil Asetat	1.54 (R)	6.20 (R)	10.82 (R)	8.02 (R)
Etanol	3.42 (R)	7.88 (R)	15.22 (I)	8.12 (R)
Air	2.31 (R)	5.30 (R)	8.53 (R)	3.03 (R)

Keterangan: S (susceptible):  $\geq 16$  mm, I (intermediate): 13-15 mm, R (resistant):  $\leq 12$  mm (CLSI, 2007)

### 3.4 Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum Ekstrak Etanol

Uji KHTM merupakan upaya mencari konsentrasi terendah yang masih mampu menghambat pertumbuhan organisme mikroba. Hasil uji KHTM ekstrak etanol tanaman *Z. zerumbet* dapat dilihat pada Tabel 3. Terlihat bahwa KHTM ekstrak etanol dalam keempat bakteri uji terjadi untuk bakteri Gram positif *S. aureus* pada konsentrasi 50 mg mL<sup>-1</sup>.

Tabel 3 Hasil uji KHTM ekstrak etanol *Z. zerumbet*

Konsentrasi ekstrak etanol (mg mL <sup>-1</sup> )	Luas zona hambat (mm) pada bakteri			
	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
250	2.59 (R)	2.89 (R)	3.42 (R)	7.71 (R)
150	-	1.98 (R)	2.72(R)	7.13 (R)
100	-	-	2.27 (R)	6.12 (R)
50	-	-	-	3.85 (R)
K+	8.96 (R)	29.66 (S)	11.59 (R)	27.92 (S)
K-	-	-	-	-

Keterangan: S (susceptible):  $\geq 16$  mm, I (intermediate): 13-15 mm, R (resistant):  $\leq 12$  mm (CLSI, 2007)

### 3.5 Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan golongan senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak. Dari hasil uji fitokimia ini dapat diduga golongan senyawa yang berperan sebagai antibakteri. Hasil uji fitokimia mengindikasikan ekstrak etanol *Z. zerumbet* mengandung senyawa-senyawa terpenoid, flavonoid, tanin dan fenolik (Tabel 4).

Tabel 4 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol *Z. zerumbet*

Uji Golongan	Reagent	Perubahan yang terjadi	Ket
Fenolik	FeCl <sub>3</sub> 5%	Hijau	+
Triterpenoid dan Steroid	Lieberman Burchard	Merah	+
	Dragendorff		
Alkaloid	Mayer Wagner	Tidak terlihat endapan	-
Saponin	Water	Busa tidak stabil	-
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Biru Pekat	+
Flavonoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Jingga	+

Keterangan: +: terdeteksi, -: tidak terdeteksi

### 3.6 Analisis Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol

Hasil analisis memperlihatkan adanya 3 puncak dengan waktu retensi berturut-turut sebesar 1.448, 15.929 dan 22.062 dengan persentasi kelimpahan berturut-turut sebesar 46.25%, 34.375% dan 100%. Analisis kromatogram ekstrak kasar etanol menunjukkan fragment ion puncak pada m/z 717.41, 679.26, dan 219.12.

Analisis massa molekul ion puncak menggunakan database dari *The Human Metabolome Database* (HMDB) berdasarkan mode ionisasi positif menunjukkan bahwa senyawa dengan m/z 717 belum diketahui, m/z 679 adalah senyawa ginglykolipid B (2-hydroxy-3-([3,4,5-trihydroxy-6-([3,4,5-trihydroxy-6-6(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy)methyl)oxan-2-yl]oxy)propyl(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate), dan m/z 219 tersebut adalah zerumbon ((2E,6E,10E)-2,6,9,9-tetramethyl-2,6,10-cycloundecatrienone).

### 3.7 Pembahasan

*Z. zerumbet* memiliki ukuran rimpang yang besar berwarna kuning gading, dengan rasa yang cukup pahit, agak pedas, dan bau yang khas dari senyawa aromatik (*spice taste*) (Gambar 1A). Tinggi tanaman berkisar 1.500-1.800 cm. Memiliki batang semu dan tumbuh tegak serta berwarna kemerahan (Gambar 1B). Daunnya berbentuk *obovate* (bulat telur terbalik) dengan pangkal daun membulat dan ujung daunnya agak meruncing (*subacuminate*). Daun bertrikom halus (*subglabrous*) serta memiliki tangkai (petiole) bermembran, ligula bermembran, dan pelepah (*sheath*) (Gambar 1C). Bunga tanaman tumbuh dari pangkal rimpang berbentuk seperti bonggol (*cone*), dan bunganya berwarna kuning pucat (Gambar 1D). Braktea merupakan kantong tempat munculnya bunga dimana satu bunga dalam satu braktea. Braktea berwarna hijau sewaktu muda dan berubah warna menjadi merah. Perubahan warna menjadi merah terjadi setelah pembuahan (Larsen et al. 1999).

Persentasi rendemen ekstrak pada Tabel 1, memperlihatkan kemampuan pelarut air lebih besar dalam mengekstraksi komponen aktif tanaman *Z. zerumbet*, diikuti oleh pelarut etanol, etil asetat dan N-heksana. Rendemen ekstrak air yang lebih besar kemungkinan dipengaruhi oleh polaritasnya. Polaritas relatif pelarut dapat dilihat dari nilai konstanta dielektrik masing-masing pelarut. Polaritas pelarut air adalah sebesar 0.90 yang mana lebih besar dari pelarut etanol (0.68), etil asetat (0.38) dan heksana (0.00) (Yasni, 2013). Hal ini menunjukkan rendemen ekstrak makin meningkat seiring meningkatnya kepolaran pelarut. Tingginya kemampuan pelarut air dalam mengekstraksi komponen aktif berkaitan dengan polaritas ( $\epsilon$ ) pelarut yang berarti komponen senyawa yang terkandung dalam rimpang *Z. zerumbet* sebagian besar merupakan senyawa polar. Sifat kepolaran senyawa dilihat dari gugus polarnya seperti gugus OH, COOH, dan lain-lain. Hal lain yang memperbesar kemampuan pelarut air dalam menarik komponen aktif adalah proses ekstraksi yang menggunakan

pemanasan pada suhu 80°C yang mana proses pemanasan akan memperbesar kelarutan.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak masing-masing dilakukan pada konsentrasi 500 mgmL<sup>-1</sup> untuk mengetahui ada atau tidaknya kemampuan ekstrak tanaman menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Kontrol positif yang digunakan adalah fosfomisin, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest. Fosfomisin diketahui bekerja menghambat sintesis peptidoglikan pada biosintesis dinding sel bakteri (Skarzynski *et al.* 1996). Ekstrak *Z. zerumbet* dinyatakan mempunyai aktivitas antibakteri jika terbentuk zona bening di sekeliling sumuran berisi ekstrak yang ditumbuhkan pada media yang telah diinokulasi oleh bakteri. Dari data pada Tabel 2. terlihat bahwa ekstrak etanol memberikan batas daerah hambat yang terefektif dengan diameter terbesar adalah 15.22 mm pada bakteri *B. subtilis*, dan diameter terkecil adalah 3.42 mm pada bakteri *E. coli*. Kader *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak kasar etanol *Z. zerumbet* dengan konsentrasi 400 µg disk<sup>-1</sup> mampu menghambat 5 jenis bakteri Gram positif dan 8 jenis bakteri Gram negatif dengan luas zona hambat berkisar 6-10 mm.

Data penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Z. zerumbet* lebih menghambat bakteri Gram positif (*S. aureus* dan *B. Subtilis*) dibanding bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*). Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan komposisi dan struktur pada dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana, yakni berlapis tunggal (90% peptidoglikan) dengan ketebalan bervariasi antara 20-40 nm (Kim *et al.* 2015) dengan kandungan lipid yang rendah (1-4%) sehingga memudahkan bahan bioaktif masuk ke dalam sel. Sementara itu, struktur dinding sel bakteri negatif lebih kompleks, yaitu berlapis tiga terdiri dari lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan menghalangi masuknya bahan bioaktif antibakteri (Griffin 2000), dan lapisan dalam berupa peptidoglikan yang berkisar 5-10 % (6.25±0.53 nm untuk *E. coli* dan 2.41±0.54 nm untuk *Ps. aeruginosa*) dengan kandungan lipid tinggi (11-12%) (Vollmer dan Seligman 2010).

Data pada Tabel 3. menunjukkan nilai KHTM terendah terjadi pada bakteri *S. aureus*. *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif, yang memiliki 40 lapisan peptidoglikan yang merupakan 50% dari bahan penyusun dinding sel (Kim *et al.* 2015). Perhusip (2006) mengungkapkan bahwa semua zat yang menghambat salah satu langkah dalam biosintesis peptidoglikan akan mengakibatkan dinding sel bakteri yang tumbuh menjadi rapuh sehingga sel akan mengalami lisis. Rusaknya dinding sel atau terhambatnya sintesis oleh senyawa antibakteri mengakibatkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap tekanan osmosis, terutama pada bakteri Gram positif yang mana kekuatan dinding selnya berasal dari peptidoglikan. Tekanan osmosis dalam sel bakteri menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri (Perhusip 2006).

Dari data hasil uji KHTM (Tabel 3.), memperlihatkan ekstrak etanol *Z. zerumbet* mempunyai aktivitas yang sedang. Ini berkaitan dengan kondisi ekstrak yang masih belum murni. Banyaknya senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar etanol ini mengakibatkan adanya sifat saling meniadakan (antagonis) antar senyawa dalam ekstrak sehingga mengurangi aktivitas antibakteri ekstrak etanol *Z. zerumbet*. Pemisahan atau fraksinasi senyawa dalam ekstrak lebih lanjut berperan penting dalam meningkatkan kemampuan hambat terhadap bakteri. Kader *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak etanol yang telah difraksinasi memiliki kemampuan hambat terendah sebesar 128-256 µg disk<sup>-1</sup> saat diujikan pada bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *B. cereus*, *S. lutea*, dan *V. Parahemolyticus*.

Uji fitokimia menggambarkan akan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Hasil uji fitokimia mengindikasikan rimpang tanaman *Z. zerumbet* mengandung senyawa-senyawa terpenoid, flavonoid, tanin dan fenolik. Nag *et al.* (2013) melaporkan bahwa *Z. zerumbet* yang berasal dari wilayah India mengandung sesquiterpenoid, flavonoid, senyawa-senyawa aromatik, vanillin, kaempferol dan senyawa turunannya, serta polifenol. Senyawa-senyawa golongan fenolik, saponin, dan terpenoid terkandung pada *Z. zerumbet* asal Bangladesh (Kader *et al.* 2011).

Senyawa-senyawa fenolik, flavanoid, tanin, dan terpenoid pada tanaman zingiberaceae diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Nursal *et al.* 2006; Lawalata, 2012). Senyawa terpen merupakan senyawa antibakteri utama dalam rempah-rempah (Yasni, 2013). Terpenoid diketahui dapat bersifat sebagai antibakteri (Cowan, 1999). Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan fraksi lipid membran plasma bakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran yang jika diakumulasi terus-menerus dapat mengakibatkan lisisnya material intraseluler akibat terbentuknya rongga pada lipid bilayer (Griffin, 2000). Senyawa tanin dan flavonoid merupakan senyawa polifenol yang bersifat sebagai antibakteri (Cowan, 1999). Senyawa flavanoid dalam aktivitas kerjanya akan membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel bakteri sehingga menurunkan permeabilitas dinding sel (Nagappan *et al.* 2011) dan merusak membran sel bakteri akibat sifat lipofiliknya (de Fatima *et al.* 2006). Demikian halnya tanin, tanin diduga berkaitan dengan dinding sel bakteri sehingga akan menginaktifkan kemampuan menempel bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri (Cowan 1999).

Analisis massa molekul ion puncak menggunakan database dari *The Human Metabolome Database* (HMDB) berdasarkan mode ionisasi positif menunjukkan bahwa senyawa dengan m/z 219 tersebut adalah zerumbon ((2E,6E,10E)-2,6,9,9-tetramethyl-2,6,10-cycloundecatrienone). Abdul *et al.* (2008) mengemukakan bahwa massa ion fragmentasi terbesar (218 m/z) sebanding dengan bobot molekul senyawa. Zerumbon merupakan konstituen terbesar pada rimpang

tanaman dengan kelimpahan berkisar antara 12.6-73.1 % (Yob *et al.* 2011; Singh *et al.* 2012). Zerumbon mempunyai rumus kimia C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O dengan berat molekul sebesar 218.3346. Zerumbon adalah senyawa monosiklik sesquiterpen dan memiliki kekhasan dalam strukturnya dimana mempunyai suatu konjugasi silang keton pada 11 anggota cincinnya (Kitayama *et al.* 2003). Zerumbon memiliki tiga ikatan rangkap di mana ikatan rangkap pada posisi C-6 terisolasi sedangkan dua ikatan pada posisi C-2 dan C-10 terkonjugasi dalam sistem dienon. Ikatan rangkap pada C-10 terkonjugasi silang dengan gugus karbonil pada struktur cincin beranggota 11. Gugus keton pada atom C-8 mengakibatkan zerumbon bersifat polar sehingga bisa terekstrak pada pelarut polar dan semi polar. Sifat polaritas senyawa merupakan sifat kimia yang sangat penting. Kepolaran ini berkaitan kelarutannya dalam air dan sifat hidrofilik sehingga zat antibakteri ini dapat larut dalam fase air dimana mikroba umumnya tumbuh dalam fase air.

Abdul *et al.* (2008) melaporkan bahwa zerumbon memiliki aktivitas antibakteri pada *S. choleraesuis* tetapi tidak memiliki kemampuan menghambat pada bakteri resisten *methicillin* dari *S. aureus*, *P. Aeruginosa*, *S. choleraesuis* dan *B. subtilis*. Santosh Kumar *et al.* (2013) melaporkan bahwa konsentrasi KHTM zerumbon dalam menghambat bakteri *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, dan *Y. Enterocolitica* berturut-turut sebesar 100, 125, 75, dan 250 ppm. Senyawa sesquiterpena diketahui memiliki aktivitas antibakteri lebih baik pada bakteri Gram positif dari pada bakteri Gram negatif. Ini diduga berkaitan dengan dimilikinya membran luar pada bakteri Gram negatif yang mengelilingi dinding sel, dimana membatasi difusi senyawa hidrofilik melalui lipopolisakarida (Vollmer dan Seligman 2010).

Senyawa dengan massa molekul ion puncak m/z 679 juga menjadi penyusun ekstrak etanol tanaman. Analisis menggunakan database HMDB memberikan hasil bahwa senyawa tersebut adalah Gingerslikolipid B (2-hydroxy-3-{{3,4,5-trihydroxy-6-{{3,4,5-trihydroxy-6-6(hydroxymethoxyloxan-2-yl)oxy)methyl}oxan-2-yl}oxy}propyl(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate). Senyawa ini memiliki rumus kimia C<sub>33</sub>H<sub>58</sub>O<sub>14</sub> dengan berat molekul sebesar 678.8052. Gingerslikolipid B umumnya ditemukan sebagai senyawa penyusun pada tanaman *Zingiber officinale* dan diketahui bersifat sebagai anti borok (Yoshikawa *et al.* 1994). Gingerslikolipid B merupakan suatu monoasilgalkosilgliserol.

Beragamnya senyawa-senyawa aktif yang terkandung pada tanaman *Z. zerumbet* dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tanaman tersebut tumbuh. Pulau Timor merupakan wilayah berkarakteristik semi arid, dimana mengalami musim kering yang panjang dan musim penghujan yang pendek. Keadaan daerah yang beriklim semiarid mengakibatkan kondisi tanamannya berada dalam keadaan cekaman kekeringan dan suhu tinggi dengan intensitas penyinaran matahari lebih panjang (Selmar, 2008). Ini mengakibatkan tanaman yang tumbuh mengalami kondisi cekaman kekeringan. Kondisi stres abiotik ini mengakibatkan tanaman mengakumulasi secara berlebihan senyawa-senyawa metabolit tertentu yang berbeda dengan daerah lain sebagai toleransi akan kondisi tersebut (Sopandie, 2014).

#### 4. Simpulan

Rimpang *Z. zerumbet* asal Pulau Timor yang diekstrak dengan pelarut air, etanol, etil asetat, dan n-heksana memiliki aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar daripada ekstrak lainnya. Nilai KHTM ekstrak etanol terhadap *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* secara berurutan adalah 50, 100, 150, 250 mg mL<sup>-1</sup>. Hasil analisis LC-MS ekstrak etanol menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak adalah zerumbon dan gingerslikolipid B.

#### Pustaka

- Abdul A B, Abdelwahab S I, Al-Zubairi A S, Elhassan M M, Murali S M. 2008. Anticancer and Antimicrobial Activities of Zerumbone from The Rhizomes of *Zingiber zerumbet*. *Int. J. Pharmacol.*, 4 (4): 301-304
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2007. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. *M100-S17*. Vol. 27 No. 1
- Cowan M M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* Vol 12, No. 4
- de Fatima A, Modo LV, Conegero LS, Pilli RA, Ferreira CV, Kohn LK, de Carvalho JE. 2006. Lactones and Their Derivatives Biological Activities, Mechanism of Action and Potential Leads for Drugs Design. *J. Med. Chem.* (13): 3371-3384
- Griffin S. 2000. *Aspect of Antimicrobial Activity of Terpenoids and The Relationship to Their Molecular Structure* [Disertation]. New South Wales (AU): University of Western Sidney
- Harborne J B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung (ID): Penerbit ITB
- Kader M G, Nikkon F, Rashid M A, Yeasmin T. 2011. Antimicrobial Activities of The Rhizome Extract of *Zingiber zerumbet* Linn. *Asian Pac J Trop Biomed.* 1(5):409-412
- Kim SJ, Chang J, Singh M. 2015. Peptidoglycan Architecture of Gram-positive Bacteria by Solid-state NMR. *Biochim Biophys Acta.* 1848: 350-362. doi: 10.1016/j.bbame.2014.05.031.
- Kitayama T, Yokoi T, Kawai Y, Hill RK, Morita M, Okamoto T, Yamamoto K, Fokin VV, Sharpless KB, Sawada S. 2003. Chemistry of Zerumbone. Part

- 5: Structural Transformation of The Dimethylamine Derivatives. *Tetrahedron*. 59: 4857-4866
- Kress WJ, Prince LM, Wiliam KJ. 2002. Phylogeny and A New Classification of The Gingers (Zingiberaceae): Evidance from Molecular Data. *Am. J. Botany* 89 (11): 1682-1696.
- Kress WJ, 2014. Zingiberales Research Website. Washington DC, USA: Smithsonian Institution.
- Larsen K, Ibrahim H, Khaw SH, Saw LG. 1999. *Pollination and Seed Dispersal*, p. 19-20. In: K. M. Wong (Ed.). *Ginger of Penninsula Malaysia and Singapura*. Natural History Publication (Borneo). Kinabalu
- Lawalata V N. 2012. *Rekayasa Proses Ekstraksi Kulit Buah Langsung (Lansium domesticum var. langsung) sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*. [disertasi].Bogor (ID): Program pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Nag A, Bandyopadhyay M, Mukherjee A. 2013. Antioxidant Activities and Cytotoxicity of Zingiber zerumbet (L.) Smith Rhizome. *J Pharmacogn Phytochem*. 2 (3): 102-108
- Nagori BP, Solanki R. 2011. Role of Medicinal Plants in Wound Healing. *Res. J. Med. Plant*. 5 (4): 392-405, 2011
- Nursal W, Sri, Wilda S. 2006. Bioaktifitas Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biogenesis* 2(2): 64-66
- Parhusip AJN. 2006. Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) Terhadap Bakteri Patogen Pangan [disertasi]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Santosh Kumar SC, Srinivas P, Negi PS, Bettadaiah BK. 2013. Antibacterial and Antimutagenic Activities of Novel Zerumbone Analogues. *Food Chem.*, 141: 1097-1103
- Sari KIP, Periadnadi, Nasir N. 2013. Uji Antimikroba Ekstrak Segar Jahe-Jahean (Zingiberaceae) Terhadap *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*. *J. Bio. UA*. 2 (1)-Maret 2013
- Selmar D. 2008. Potensial of Salt and Drought Stress to Increase Pharmaceutical Significant Secondary Coumpounds in Plants. *Agriculture and forestry research*. 58:139-144
- Sinaga E, Suprihatin, Wiryanti I. 2011. Perbandingan Daya Sitotoksik Ekstrak Rimpang 3 Jenis Tumbuhan Zingiberaceae Terhadap Sel Kanker MCF-7. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 5 No. 3. Januari 2011: 125-133
- Singh CB, Nongalleima Kh, Brojendrosingh S, Ningobam S, Lokendrajit N, Singh LW. 2012 Biological and Chemical Properties of Zingiber zerumbet Smith: A Review. *Phytochem Rev*. 11:113-125
- Skarzynski T, Mistry A, Wonacott A, Hutchinson SE, Kelly VA, Duncan K. 1996. Structure of UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase, An Enzyme Essential for The Synthesis of Bacterial Peptidoglycan, Complexed with Substrate UDP-N-acetylglucosamine and The Drug Fosfomycin. *Structure*. 4: 1465-1474.
- Sopandie D. 2014. *Fisiologi Adaptasi Tanaman Terhadap Cekaman Abiotik pada Agroekositem Tropika*. Bogor (ID): IPB Press
- Vollmer W, Seligman SJ. 2010. Architecture of Peptidoglycan: More Data and More Models. *Trend in Microbiol*. Vol 18, No. 2
- Voravuthikuncai SP, Limsuwan S, Supapol O, Subhadhirasakul S. 2006. Antibacterial Activity of Extracts from Family Zingiberaceae Against Foodborne Pathogens. *J Food Safety*. 26: 325-334.
- Yasni S. 2013. *Teknologi Pengolahan dan Pemanfaatan Produk Ekstraktif Rempah*. Bogor: IPB Press.
- Yob N J, Jofrry S. M, Affandi M M R, Teh L K, Salleh M Z, Zakaria Z A. 2011. Zingiber zerumbet (L.) Smith: A Review of Its Ethnomedicinal, Chemical, and Pharmacological Uses. Doi: 10.1155/2011/543216
- Yoshikawa M, Yamaguchi S, Kunimi K, Matsuda H, Okuno Y, Yamahara J, Murakami N. 1994. Stomachic Principles in Ginger III. An Anti-ulcer Principle, 6-Gingesulfonic acid, and Three Monoacyldigalactosylglycerols, Gingerglycolipids A, B, and C, from Zingiberis Rhizoma Originating in Taiwan. *Chem Pharm Bull*. 42 (6) 1226-1230