

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANALISIS EKSTRAK *n*-HEKSANA RIMPANG CHENGKENAM (*Alpinia mutica*)

Noviana Ipi^{1*}, Rudiyanasyah¹, Endah Sayekti¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,

Jln. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124, Pontianak

Email: noviana_ipi@yahoo.co.id

ABSTRAK

Chengkenam (Alpinia mutica Roxb.) tergolong dalam famili *Zingiberaceae* yang biasa dikenal sebagai tanaman hias. Rimpang tanaman ini biasanya digunakan sebagai obat sakit perut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan aktivitas antibakteri ekstrak *n*-heksana rimpang chengkenam (*A. mutica* Roxb.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstraksi metabolit sekunder dengan menggunakan metode maserasi. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Hasil analisis GC-MS ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* menunjukkan adanya 17 komponen senyawa. Lima senyawa mayor yang memiliki luas area atau kelimpahan besar yaitu senyawa 4-tert-butil-2-(1-metil-2-nitro-etil)-sikloheksanon, pentadekana, sikloheksanon 3-(3,3-dimetil), 1-oktin-3-ol-4-etil dan tetrakosana. Ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* dan antibiotik siprofloksasin sebagai kontrol positif lebih sensitif terhadap bakteri Gram negatif *P. aeruginosa* dibandingkan terhadap bakteri Gram positif *S. aureus*.

Kata kunci : *Alpinia mutica* Roxb., Rimpang, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, GC-MS

PENDAHULUAN

Tanaman *Alpinia mutica* tumbuh di daerah tropis dan subtropis, dengan wilayah sebaran utamanya adalah mulai dari Indonesia ke Malaysia hingga Jepang dan New South Wales (Lawrence, 1995). Salah satu daerah di Indonesia yang diketahui terdapat tanaman ini yaitu di desa Tanjung Durian kecamatan Putussibau Utara kabupaten Kapuas Hulu provinsi Kalimantan Barat. Berikut adalah gambar tanaman *A. mutica*:



Gambar 1. *Alpinia mutica*

Tanaman *A. mutica* tergolong dalam famili *Zingiberaceae*. Tanaman ini dikenal dengan nama 'Chengkenam' yang berasal dari bahasa Malaysia. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa lebih dari sepuluh spesies telah dibudidayakan sebagai tanaman hias dan

rimpangnya telah digunakan secara tradisional oleh penduduk setempat sebagai obat untuk mengobati perut kembung (Sukari, *et al.*, 2013). Bagian tanaman *Alpinia* seperti buah dan rimpang telah dimanfaatkan sebagai obat antiplatelet, antioksidan, antikanker dan antiinflamasi (Habsah, *et al.*, 2000 ; Jantan, *et al.*, 2004; 2008; Malek, *et al.*, 2011 ; Phang, *et al.*, 2011).

Berdasarkan hasil penelusuran literatur, senyawa aktif hasil isolasi dari ekstrak etil asetat rimpang *A. mutica* yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap enam sel karsinoma manusia adalah flavokawain B, 5,6-dehidrokawain, pinostrobin kalkon dan alpinetin (Malek, *et al.*, 2011).

Meningkatnya jumlah kasus penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba patogen merupakan permasalahan serius di bidang medis. Fenomena tersebut salah satunya dapat ditanggulangi dengan menggunakan antibiotik. Antibiotik adalah senyawa kimia yang pada konsentrasi rendah dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroba (Pelczar dan Chan, 2008). Sampai saat ini belum ada penelitian tentang aktivitas antibakteri dari ekstrak rimpang *A. mutica*. Oleh karena itu perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dan analisis ekstrak *n*-heksana dari rimpang *A. mutica* yang berasal dari desa Tanjung Durian kecamatan Putussibau Utara kabupaten Kapuas Hulu provinsi Kalimantan Barat.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave*, cawan petri, *hot plate*, jangka sorong, kawat ose, laminar, mikropipet, bunsen, *evaporator* dan peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium kimia. Instrument analisis spektrometer GC-MS.

Bahan-bahan yang digunakan adalah agar-agar, dimetil sulfoksida (DMSO), ekstrak ragi, metanol, natrium klorida, *n*-heksana, pepton, siprofloksasin, bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*.

Prosedur Penelitian

Pengumpulan dan pengolahan sampel tanaman

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang *A. mutica* yang berasal dari desa Tanjung Durian, kecamatan Putussibau Utara kabupaten Kapuas Hulu, provinsi Kalimantan Barat. Sampel rimpang *A. mutica* dibersihkan dari tanah yang menempel, dipotong halus dikeringkan pada suhu ruang, selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah maserasi.

Maserasi

Rimpang *A. mutica* sebanyak 15 kg, dimaserasi dengan pelarut metanol yang telah didestilasi. Wadah maserasi dikondisikan pada ruang gelap. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Ekstrak kemudian disatukan dan diuapkan dengan suhu 30°C pada *rotary evaporator*.

Partisi

Ekstrak rimpang *A. mutica* yang diperoleh dipartisi dalam corong pisah dengan larutan *n*-heksana. Partisi dilakukan berulang-ulang sampai semua metabolit sekunder terpisahkan dan diperoleh ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*. Selanjutnya dilakukan analisis GC-MS dan uji antibakteri serta dihitung persen rendemen ekstrak hasil.

Persiapan Bakteri Uji

Peremajaan Kultur Murni Bakteri

Kultur murni bakteri uji *S. aureus* dan *P. aeruginosa* diinokulasikan pada medium agar *nutrient agar* (NA) dalam cawan petri dengan cara digoreskan secara aseptik, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pembuatan Suspensi Kultur Murni Bakteri Uji

Kultur bakteri dari agar NA dipindahkan ke dalam media *nutrient broth* (NB) sebanyak 10 mL yang sudah disterilisasi. Tabung biakan

kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Dhavina, 2010).

Pembuatan Larutan Sampel

Sampel ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* dibuat dalam konsentrasi 10 % dan 20 % b/v (mg/mL). Pelarut yang digunakan yaitu 1 mL dimetil sulfoksida (DMSO), kontrol negatif menggunakan akuades dan kontrol positif menggunakan siprofloksasin 7,14%.

Pengujian Mikrobiologis

Pengujian daya hambat ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas saring berdiameter 5 mm. Medium NA yang telah dipanaskan kemudian didinginkan hingga suhu $\pm 50^\circ\text{C}$ kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga media membeku. Cawan petri berisi media NA yang sudah membeku digoreskan bakteri uji secara aseptik (Dhavina, 2010).

Kertas saring direndam dalam larutan sampel selama 15 menit dan dikeringkan. Kertas ditempatkan pada permukaan media yang telah memadat dengan jarak antara satu dengan yang lain sebesar 3 cm dan jarak dari tepi media sebesar 2 cm. Media yang telah diisi sediaan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C, selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk (Dhavina, 2010).

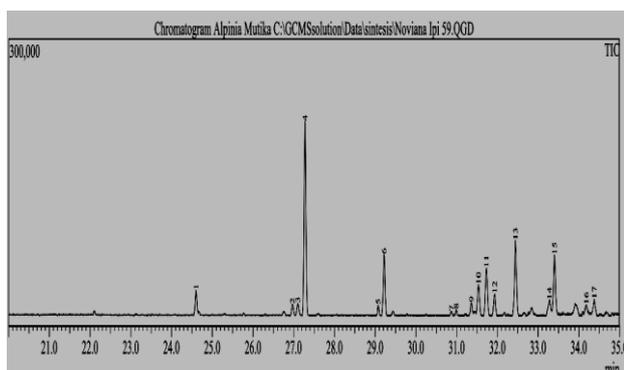
HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Ekstrak metanol rimpang *A. mutica* yang diperoleh berwarna merah kecokelatan sebanyak 5,7 liter. Berat total ekstrak metanol rimpang *A. mutica* yang telah dievaporasi adalah 66,135 gram dan rendemen sebesar 0,4409%. Berat total ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* yang telah difraksinasi adalah 2,0585 gram dan rendemen sebesar 0,0137%.

Analisis GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan terhadap ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*. Kromatogram hasil GC ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*

Hasil analisis ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* menggunakan GC-MS, menunjukkan bahwa rimpang *A. mutica* yang digunakan dalam penelitian ini mengandung 17 komponen senyawa. Senyawa mayor merupakan senyawa yang memiliki luas area yang besar yang ditunjukkan dengan banyaknya kelimpahan senyawa yang terkandung. Beberapa senyawa mayor yang terdapat dalam rimpang *A. mutica* dapat dilihat pada Tabel 1:

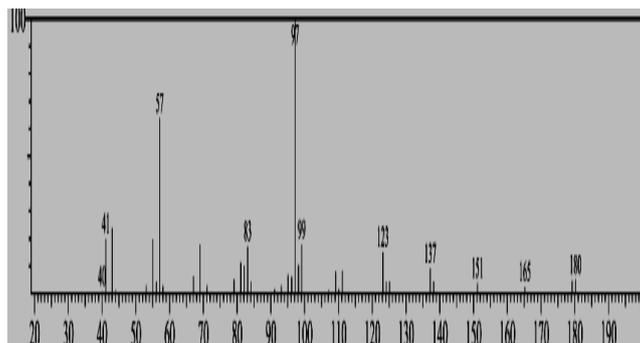
Tabel 1: Senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*

Peak	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Waktu Retensi (menit)	Area (%)	SI
4.	C ₁₃ H ₂₃ NO ₃	4-tert-butil-2-(1-metil-2-nitro-etil)-sikloheksanon	27,277	31,24	77
6.	C ₁₅ H ₃₂	Pentadekana	29,220	9,16	94
11.	C ₁₂ H ₂₂ O	Sikloheksanon, 3-(3,3-dimetil)	31,731	8,44	80
13.	C ₁₀ H ₁₈ O	1 oktin-3-ol-4-etil	32,444	12,47	78
15.	C ₂₄ H ₅₀	Tetrakosana	33,402	10,14	91

Ket: Peak (puncak); SI (similar indeks/kemiripan); Area (kelimpahan)

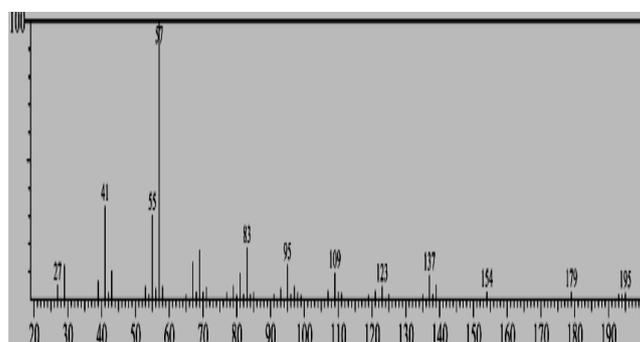
Total kelimpahan dari senyawa utama tersebut adalah 71,45% yang menunjukkan banyaknya senyawa yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*. Berdasarkan hasil kromatogram GC di atas, diperoleh data MS beserta pola fragmentasi dari masing-masing senyawa yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*.

Salah satu spektra MS dari senyawa yang terdapat dalam kromatogram GC-MS adalah 4-tert-butil-2-(1-metil-2-nitro-etil) sikloheksanon pada waktu retensi 27, 277 menit memiliki berat molekul (BM) 180 terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektra MS 4-tert-butil-2-(1-metil-2-nitro-etil) sikloheksanon dalam ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*

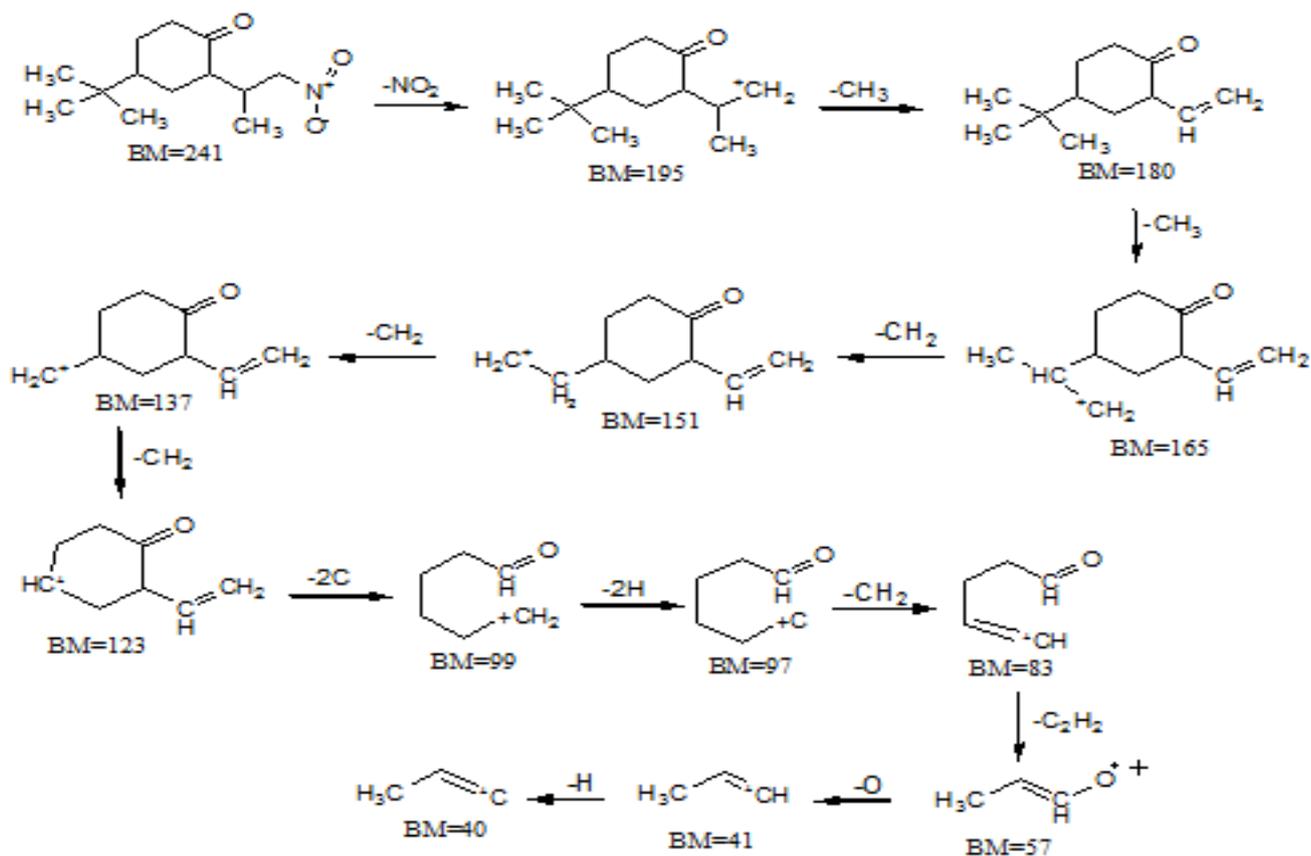
Spektra target bersesuaian dengan spektra massa standar 4-tert-butil-2-(1-metil-2-nitro-etil) sikloheksanon dengan kemiripan 77% sesuai *library* WILEY7.LIB yang terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektra MS 4-tert-butil-2-(1-metil-2-nitro-etil) sikloheksanon dari *library* WILEY7.LIB

Spektra MS ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* memiliki pola fragmentasi pada puncak-puncak *m/e* 40, 41, 57, 83, 97, 99, 123, 137, 151, 165, 180, dan 195. Hasil dari pola fragmentasi dapat diusulkan mekanisme fragmentasi dari senyawa 4-tert-butil-2-(1-metil-2-nitro-etil) sikloheksanon (C₁₃H₂₃NO₃) dari ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan penelitian sebelumnya terhadap rimpang *A. mutica* diperoleh senyawa flavokawain B, 5,6-dehidrokawain, pinostrobin kalkon dan alpinetin yang terisolasi ekstrak etil asetat (Malek, *et al.*, 2011). Senyawa yang diperoleh pada penelitian ini berbeda meskipun digunakan sampel yang sama. Hal ini karena fraksi yang digunakan adalah fraksi *n*-heksana yang bersifat nonpolar dibandingkan dengan etil asetat sehingga senyawa yang diperoleh juga berbeda. Senyawa-senyawa yang dihasilkan merupakan golongan alkana dan turunannya yang berasal dari fraksi non polar.



Gambar 5. Perkiraan mekanisme fragmentasi 4-tert-butyl-2-(1-metil-2-nitro-etil) sikloheksanon

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*. Metode yang digunakan pada uji ini yaitu difusi agar menggunakan kertas cakram. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Tabel 2: Diameter zona hambat ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
10%	15,70	16,97
20%	19,01	20,39
Siprofloksasin 7,14%	20,35	25,57
Akuades	00,00	00,00

Daya antibakteri ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* terhadap bakteri *S. aureus* pada

konsentrasi ekstrak 10% dan konsentrasi 20% memiliki daya hambat kuat. *P. aeruginosa* terhadap ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* pada konsentrasi 10% memiliki daya hambat kuat sedangkan pada konsentrasi ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* 20% memiliki daya

hambat sangat kuat. Daya hambat ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* terhadap bakteri uji, dibandingkan dengan menggunakan antibiotik siprofloksasin sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang dibentuk oleh siprofloksasin lebih besar pada bakteri Gram negatif *P. aeruginosa* dibandingkan pada bakteri Gram positif *S. aureus*. Berdasarkan pengamatan dapat disimpulkan bahwa ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* dan antibiotik siprofloksasin lebih sensitif terhadap bakteri Gram negatif *P. aeruginosa* dibandingkan terhadap bakteri Gram positif *S. aureus*. Menurut Davis and Stout (1971), kriteria kekuatan daya hambat antibakteri diameter zona hambat ≥ 20 mm sangat kuat, 11-19 mm kuat, 5-10 mm sedang dan < 5 mm lemah. Bakteri *P. aeruginosa* memiliki sensitivitas yang lebih tinggi daripada *S. aureus* terhadap

ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica*. Menurut Pelczar dan Chan (2006) menyatakan bahwa bakteri gram negatif dan bakteri gram positif memiliki sensitivitas berbeda terhadap antibiotik.

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* pada konsentrasi 10% memiliki daya hambat lebih kecil dibandingkan dengan siprofloksasin pada konsentrasi 7,14%. Siprofloksasin merupakan golongan fluorokuinolon, mekanisme kerjanya yaitu mengganggu sintesis DNA dengan cara mengganggu kerja enzim. Enzim yang dominan dihambat pada bakteri *P. aeruginosa* yaitu DNA Gyrase (Topoisomerase II) sedangkan pada bakteri *S. aureus* enzim yang dominan dihambat yaitu DNA Topoisomerase IV sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri terganggu (Jawetz dan Adelberg, 2007).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa hasil analisis GC-MS ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* menunjukkan adanya 17 komponen senyawa. Lima senyawa mayor yang memiliki luas area atau kelimpahan besar yaitu senyawa 4-tert-butyl-2-(1-metil-2-nitro-etil)-sikloheksanon, pentadekana, sikloheksanon 3-(3,3-dimetil), 1-oktlin-3-ol-4-etil dan tetrakosana. Ekstrak *n*-heksana rimpang *A. mutica* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* yang diketahui dengan adanya zona bening yang terbentuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Davis, W.W. and Stout, T.R., 1971, Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay, *Microbiology.*, **22(4)**: 659-665.
- Dhavina, D., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol *Sargassum polycystum* Agardh terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura, Pontianak, Skripsi.
- Habsah, M.; Amran, M.; Mackeen, M.M.; Lajis, N.H.; Kikuzaki, H.; Nakatani, N.; Rahman, A.A. and Ali, A.M., 2000, Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities, *J.Ethnopharmacol.*, **72**: 403-410.
- Jantan, I.; Pizar, M.; Sirat, H.M.; Basar, N.; Jamil, S.; Ali, R.M. and Jalil, J., 2004, Inhibitory

Effects of Compounds from Zingiberaceae Species on Platelet Activating Factor Receptor Binding, *Phytotherap. Res.*, **18**: 1005-1007.

- _____, I.; Raweh, S.M.; Sirat, H.M.; Jamil, S.; Mohd Yasin, Y.H.; Jalil, J. and Jamal, J.A., 2008, Inhibitory effect of compounds from Zingiberaceae species on human platelet aggregation, *Phytomed.*, **15**: 306-309.
- Jawetz, E Melnick JL and Adelberg EA (2007). Mikrobiologi Kedokteran, Penerjemah: Huriawati Hartanto, Chaerunnisa Rachman, Alifa Dimanti dan Aryana Diani, Edisi 23, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Lawrence, G.H.M., 1995, Taxonomy of Vascular Plant, Jhon Wiley and Sons, New York.
- Malek, S.N.A.; Phang, C.W.; Ibrahim, H.; Wahab, N.A. and Kae, S.S., 2011, Phytochemical and Cytotoxic Investigations of *Alpinia mutica* Rhizomes, *Molecules.*, **16**:583-589.
- Phang, C.W.; Malek, S.N.A.; Ibrahim, H. and Wahab, N.A., 2011, Antioxidant properties of crude and fractionated extracts of *Alpinia mutica* rhizomes and their total phenolic content, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, **5(7)**: 842-852.
- Pelczar, M.J. and Chan, E.C.S., 2006, Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid I, Penerjemah: Ratna Sri Hadioetomo, Teja Imas, S. Sutarmi Tjitrosomo, dan Sri Lestari Angka, UI Press, Jakarta, 46, 117.
- _____, M.J. and Chan, E.C.S., 2008, Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid II, Penerjemah: Ratna Sri Hadioetomo, Teja Imas, S. Sutarmi Tjitrosomo, dan Sri Lestari Angka, UI Press, Jakarta, 526, 550.
- Sukari, M.A.; Mustahil, N.A.; Lian, G.E.C.; Abdul, A.B. and Ali Nor, A., 2013, Evaluation of Biological Activities of *Alpinia mutica* Roxb. and its Chemical Constituents, University Putra Malaysia, Malaysia.