

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN HEKSAN DAUN
BANGLE (*Zingiber cassumunar Roxb.*) TERHADAP BAKTERI *Eschericia
coli* DAN *Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL AND HEXANE EXTRACT OF
BANGLE LEAVES (*Zingiber cassumunar Roxb.*) AGAINST *Eschericia coli*
AND *Staphylococcus aureus***

**M. Anindya Puspita Sari^{*1}, Drs. B. Boy Rahardjo S.¹, M. Sc., dan L. M.
Ekawati Purwijantiningih¹**

^{*}Penulis untuk korespondensi (maria_anindya@y7mail.com), ¹Fakultas
Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta

Abstrak

Daun bangle yang diekstrak menggunakan etanol dan heksan menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 3,994 dan 2,581%. Ekstrak etanol dan heksan daun bangle menunjukkan aktivitas antibakteri yang tidak berbeda nyata dari kontrol negatif. Analisis senyawa volatil menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) menunjukkan bahwa kedua ekstrak mengandung komponen utama *Neophytadiene* (38,90% dan 40,57%), *Ambrosin* (10,19% dan 9,1%), *2-Pentadecanone*, *6,10,14-trimethyl-* (CAS) *6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone* (7,75% dan 8,05%). Ketiga komponen tersebut diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Uji fitokimia menunjukkan saponin hanya terkandung dalam ekstrak etanol, tetapi kedua ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid. Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol terhadap *Eshcerichia coli* sebesar 90 mg/ml dan terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 0,3 mg/ml.

Kata kunci: daun bangle, antibakteri, *E. coli*, *S. aureus*.

Abstract

*Yield extract of bangle leaves extracted with ethanol and hexane were 3.994 and 2.581% of crude extract. Antibacterial activity of ethanol and hexane extract had no differences with negative control. Main volatile compounds in both extract were Neophytadiene (38,90% and 40,57%), Ambrosin (10,19% and 9,1%), 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- (CAS) 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone (7,75% and 8,05%). These compounds were detected by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The main volatile compounds had antibacterial activity. Phytochemical tests to the extract showed that ethanol extract contained saponin but hexane didn't. Alkaloid, flavonoid, terpenoid, and steroid were contained in both extract. Minimum inhibitory concentration of ethanol extract against *E. coli* was 90 mg/ml and against *S. aureus* was 0,3 mg/ml.*

Keyword: bangle leaves, antibacterial, *E. coli*, *S. aureus*

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan berbagai tanaman obat, lebih dari 940 spesies tanaman obat telah digunakan sebagai obat tradisional (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015). Obat tradisional dibuat dari berbagai jenis tanaman obat yang diolah secara sederhana dan digunakan untuk mengatasi berbagai penyakit. Sejumlah studi menunjukkan bahwa jenis tanaman obat yang paling banyak digunakan sebagai obat tradisional di beberapa wilayah di Indonesia yaitu tanaman obat dari suku Zingiberaceae (Setiyawati, 2003, Kuntorini, 2005, dan Kasrina, 2014).

Rimpang bangle secara tradisional dapat digunakan untuk obat diare dan digunakan sebagai larutan pembersih untuk penyakit kulit (Oliveros, 1996) karena aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri penyebab diare dan infeksi kulit (Lutfiyah, 2012). Aktivitas antibakteri rimpang bangle terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dapat meningkatkan penggunaan bangle sebagai antibakteri alami. Akan tetapi, dari seluruh bagian tanaman bangle, hanya bagian rimpang saja yang digunakan padahal panen bangle berlangsung setelah tanaman berumur satu tahun lebih (Muhlisah, 2011). Oleh karena itu, pemanfaatan daun bangle akan lebih menguntungkan.

METODE PERCOBAAN

Pengeringan dan pembuatan serbuk daun bangle: Daun bangle dari tanaman berumur 1 tahun (berwarna kuning kecoklatan) diperoleh dari petani di Kecamatan Plaosan, Kabupaten Magetan, Jawa Timur. Daun bangle dipisahkan

dari batangnya dengan menyertakan bagian pelepah sekitar 1-2 cm. Daun bangle dikeringkan secara langsung menggunakan sinar matahari dengan pembalikan setiap 2 jam. Daun bangle kering kemudian dihancurkan menggunakan blender dan disimpan dalam wadah tertutup rapat (Sembiring dkk., 2012 dengan modifikasi).

Ekstraksi: Serbuk daun bangle yang telah diukur kadar airnya menggunakan *moisture balancing* (syarat <10%) selanjutnya diekstraksi menggunakan etanol dan heksan Pro Analisis dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan selama 72 jam menggunakan *shaking incubator* dengan kecepatan agitasi 150 rpm dan suhu 30-33°C. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental (Kaushik dan Goyal, 2011 dan Sukatta dkk., 2009 dengan modifikasi).

Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin tanin, terpenoid, dan steroid

Uji senyawa volatil: Pengujian senyawa volatil sampel dilakukan di Laboratorium Instrumentasi Terpadu, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, menggunakan GC-MS Shimadzu PQ2010. Kondisi pengujian disesuaikan dengan metode Sukatta dkk. (2005) sebagai berikut (Tabel 1).

Uji kemurnian bakteri meliputi uji morfologi koloni dan sel bakteri, motilitas bakteri, dan uji biokimia yang terdiri dari uji katalase, indol, fermentasi karbohidrat, reduksi nitrat dan hidrolisis pati.

Uji antibakteri: Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar sumuran. Suspensi bakteri uji sebanyak 75 µl diinokulasikan pada medium agar petri dengan metode *spread plate*. Kekeruhan suspensi

Tabel 1. Kondisi pengujian menggunakan GC/MS Shimadzu PQ2010

Parameter		Parameter	
<i>Column oven temperature</i>	100°C	<i>Purge flow</i>	3 ml/menit
<i>Injection temperature</i>	250°C	<i>Split ratio</i>	153
<i>Injection mode</i>	Split	<i>Oven temperature</i>	60°C (3 menit) dengan kenaikan 1°C/menit menuju 80°C, 3°C/menit menuju 120°C, dan kenaikan 4°C/menit menuju 220°C
<i>Flow control mode</i>	OFF	<i>ACQ mode</i>	Scan
<i>Pressure</i>	36 kPa	<i>Event time</i>	0,5 detik
<i>Total flow</i>	98,5 ml/menit	<i>Scan speed</i>	212
<i>Column flow</i>	0,62 ml/menit	<i>Start m/z</i>	100
<i>Linear velocity</i>	29,3 cm/detik	<i>End m/z</i>	200

bakteri uji terlebih dahulu dibandingkan dengan standar 0,5 McFarland. Suspensi bakteri yang terlalu keruh diencerkan menggunakan akuades steril. Medium selanjutnya dilubangi dengan perforator no. 3 (diameter 6 mm). Jumlah ekstrak dan kontrol negatif (*Dimethyl Sulfoxide*: DMSO, pelarut etanol dan heksan) masing-masing sebanyak 50 µl. Kontrol positif berupa kertas cakram antibiotik Ampisilin. Medium kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Risnawati dkk., 2014 dengan modifikasi).

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM): Konsentrasi hambat minimum ekstrak daun bangle yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* ditentukan dengan membuat variasi konsentrasi ekstrak 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 100 mg/ml untuk diuji lebih lanjut. Apabila konsentrasi minimum ekstrak tidak dapat ditentukan dalam rentang konsentrasi

tersebut, dibuat rentang konsentrasi dengan konsentrasi maksimal sebesar 100 mg/ml. Nilai KHM ditentukan dengan metode *broth dilution* yang dilanjutkan dengan diinokulasikan pada medium agar petri dengan metode *spread plate* (Andrews, 2001 dengan modifikasi).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Nurikasari (2011) dan Lutfiyah (2012) menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan rimpang bangle diduga berasal dari senyawa terpenoid. Senyawa yang termasuk dalam golongan terpenoid dapat larut dalam pelarut organik polar dan non-polar (Liu, 2010). Oleh sebab itu, digunakan pula pelarut non-polar heksan untuk memaksimalkan ekstraksi senyawa terpenoid yang berpotensi sebagai antibakteri. Rendemen ekstrak etanol dan heksan daun bangle dapat dilihat pada Tabel 2.

Rendemen ekstrak dapat dipengaruhi oleh jenis pelarut (Senja dkk., 2014), ekstrak etanol daun bangle memiliki nilai rendemen yang lebih besar dari ekstrak heksan. Hal ini berkaitan dengan komponen-komponen yang dapat diekstrak oleh pelarut, etanol dapat menarik senyawa polar dan non-polar, sedangkan heksan hanya dapat menarik senyawa non-polar. Oleh sebab itu, etanol dapat mengekstrak lebih banyak senyawa. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung saponin, sedangkan ekstrak heksan tidak. Kandungan saponin dalam ekstrak etanol dapat menjadi penyebab lebih tingginya rendemen ekstrak etanol (Tabel 3).

Rendahnya rendemen ekstrak etanol dan heksan daun bangle yang diperoleh dapat disebabkan oleh rendahnya kandungan fitokimia dalam daun

bangle dari tanaman berumur 1 tahun. Zingiberaceae akan diakumulasi dalam rimpang seiring dengan bertambahnya umur tanaman, sehingga kandungan metabolit sekunder dalam daun atau bagian tanaman lain akan berkurang (Ghasemzadeh dkk. 2010).

Tabel 2. Rendemen ekstrak daun bangle

Ekstrak	Warna ekstrak	Berat ekstrak (g)	Berat serbuk (g)	Rendemen ekstrak (%)
Etanol	Coklat	1,9970	50	3,994
Heksan	Coklat kekuningan	1,2903	50	2,581

Tabel 3. Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Bangle

Fitokimia		Ekstrak Etanol	Ekstrak Heksan
Alkaloid	Reagen Wagner	+	+
	Reagen Mayer	+	+
	Reagen Dragendorff	+	+
Flavonoid		+	+
Saponin		+	-
Tanin		-	-
Terpenoid		+	+
Steroid		+	+

Keterangan: (+) ada; (-) tidak ada

Saponin merupakan fitokimia yang bersifat polar, larut dalam air dan pelarut polar lainnya, dan tidak larut dalam pelarut non-polar (Negi dkk., 2013). Pelarut heksan bersifat non-polar, oleh sebab itu kandungan saponin dalam daun bangle tidak dapat terekstrak. Sebaliknya, daun bangle yang diekstrak menggunakan pelarut polar etanol diketahui mengandung saponin. Ekstrak etanol dan heksan daun bangle keduanya tidak mengandung tanin. Menurut Alasalvar dkk. (2008), tanin merupakan senyawa dengan berat molekul relatif tinggi dan polaritas etanol terlalu rendah untuk mengekstrak keseluruhan tanin yang merupakan senyawa polar.

Menurut Bell dkk. (1992) dan Lege (1998), kandungan tanin pada jaringan muda lebih tinggi dari jaringan tua. Banyak serangga menyerang daun muda sehingga konsentrasi tanin lebih tinggi dalam daun muda dibandingkan daun tua. Daun bangle yang diekstrak merupakan daun dari tanaman berumur 1 tahun, sehingga kandungan tanin sangat rendah atau bahkan tidak ada lagi. Sifat tanin yang polar tidak dapat larut dalam pelarut non-polar heksan, sehingga uji tanin terhadap ekstrak heksan daun bangle menunjukkan reaksi negatif.

Hasil uji GC/MS ekstrak daun bangle (Tabel 4) menunjukkan adanya kandungan utama berupa *Neophytadiene*, *Ambrosin*, dan *2-Pentadecanone*, *6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone*. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri (Ogunwande dkk., 2007; Ragasa dkk., 2009; Makkawi dkk., 2015).

Tabel 4. Hasil analisis GC-MS ekstrak etanol dan heksan daun bangle

Peak ke-	Senyawa	Formula	Berat Molekul (g/mol)	Kelompok senyawa	Ekstrak Etanol		Ekstrak Heksan	
					Waktu Retensi (menit ke-)	% Area	Waktu Retensi (menit ke-)	% Area
11, 15	<i>6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone</i>	$C_{18}H_{36}O$	268	*	31.243	7,75	31.239	8,05
15, 18	<i>Neophytadiene</i>	$C_{20}H_{38}$	278	Diterpen	40.075	38,90	40.076	40,57
19, 24	<i>Ambrosin</i>	$C_{15}H_{18}O_3$	246	Seskuiterpen	47.672	10,19	47.662	9,1

Escherichia coli termasuk patogen yang memiliki kemampuan untuk menyebabkan penyakit di beberapa sistem tubuh, terutama saluran pencernaan (diare) dan saluran kemih (infeksi saluran kemih) (Sussman, 1997). *Staphylococcus aureus* bertanggung jawab atas 80% penyakit supuratif dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya. Infeksi kulit dan luka terbuka seperti ulkus, bekas terbakar, dan luka bekas operasi berpotensi terinfeksi *S. aureus* dan

berakibat infeksi sistemik (Wistreich, 1999). Uji kemurnian bakteri yang dilakukan meliputi identifikasi pertumbuhan bakteri pada medium padat dan reaksi biokimia. Hasil uji kemurnian bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji kemurnian bakteri

Uji	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Morfologi koloni	Putih, <i>round</i> , besar, 2-4 mm, permukaan halus, elevasi <i>raised</i> , keruh	Kuning, <i>round</i> , kecil, 1-2 mm, permukaan halus, tepi <i>entire</i> , elevasi <i>convex</i> , transparan
Motilitas	Motil	Non-motil
Pengecatan Gram	Gram negatif, batang	Gram positif, kokus
Katalase	Katalase positif	Katalase positif
Fermentasi karbohidrat	Glukosa	Asam dan gas
	Sukrosa	Asam
	Laktosa	Asam dan gas
	Maltosa	Asam
Reduksi nitrat	Pereduksi nitrat	Pereduksi nitrat
Hidrolisis pati	Tidak menghidrolisis pati	Tidak menghidrolisis pati
Pembentukan indol	Produksi indol	Produksi indol

Uji beda nyata terhadap luas zona hambat yang dihasilkan ekstrak dan kontrol dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan nilai yang beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji beda nyata antar perlakuan menunjukkan bahwa ekstrak daun bangle menghasilkan luas zona hambat yang tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif (Tabel 6). Hal ini menunjukkan bahwa kedua jenis pelarut memiliki kemampuan yang sama dalam mengekstrak fitokimia dalam daun bangle. Aktivitas antibakteri ekstrak berkaitan dengan senyawa antibakteri yang dapat diekstrak oleh pelarut. Berdasarkan penelitian Kateregga dkk. (2013) dan Engwa dkk. (2015), diketahui bahwa semakin banyak fitokimia yang dapat diekstrak oleh pelarut dapat meningkatkan aktivitas ekstrak tersebut.

Etanol memiliki gugus polar dan non-polar sehingga dapat menarik senyawa polar dan non-polar (Daley dan Daley, 2013). Dengan demikian, sejumlah senyawa non-polar yang terekstrak dalam heksan dapat pula terekstrak dalam etanol. Akan tetapi, heksan yang merupakan pelarut non-polar hanya mampu mengekstrak senyawa dengan polaritas rendah (Kerton dan Marriott, 2013).

Tabel 4. Hasil uji beda nyata luas zona hambat ekstrak dan kontrol (cm²)

Perlakuan		Bakteri		Rata-rata
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	
Ekstrak Etanol		0,803	0,493	0,648 ^x
Ekstrak Heksan		0,682	0,436	0,559 ^x
Kontrol positif Ampisilin		0,834	4,637	2,735 ^y
Kontrol negatif	Etanol	0,211	0	0,106 ^x
	Heksan	0	0	0 ^x
	DMSO	0	0	0 ^x
Rata-rata		0,422 ^a	0,928 ^b	

Keterangan:

Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda pada tingkat kepercayaan 95%.

Keberadaan saponin dalam ekstrak etanol dapat meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol lebih baik daripada ekstrak heksan. Menurut Sampredo dan Valdivia (2014), saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan mengganggu membran sel yang berakibat meningkatkan permeabilitas sel. Ekstrak etanol daun bangle diketahui mengandung lebih banyak jenis fitokimia, tetapi hasil analisis beda nyata terhadap luas zona hambat antarperlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata antara penggunaan dua pelarut tersebut. Hal ini dapat disebabkan oleh rendahnya kandungan saponin dalam ekstrak sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan ekstrak etanol tidak berbeda nyata dengan ekstrak heksan. Menurut Ghasemzadeh dkk., (2010), metabolit sekunder yang diproduksi tanaman dari suku Zingiberaceae akan ditransfer menuju rimpang dan akan diakumulasi

dalam rimpang seiring bertambahnya umur tanaman sehingga kandungan metabolit sekunder pada daun atau bagian tanaman lain lebih rendah dibandingkan rimpang.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap etanol menunjukkan bahwa etanol menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli*. Dengan demikian, zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol terhadap *E. coli* dapat dipengaruhi oleh aktivitas antibakteri etanol, meskipun penguapan etanol menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* telah mendukung penguapan etanol secara optimal. Aktivitas antibakteri etanol terhadap bakteri Gram negatif berupa penetrasi ke dalam lapisan ganda fosfolipid, penggantian molekul fosfolipid, dan mengganggu peredaran molekular intramembran. Target antibakteri etanol yaitu gradien pH transmembran dan integritas membran, mengakibatkan lisisnya sel dan gangguan terhadap transportasi dan proses penggandaan energi dalam sel bakteri (Denyer dan Stewart, 1998).

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa etanol dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Hal ini dapat disebabkan oleh tingginya konsentrasi etanol yang digunakan (>98%). Etanol absolut memiliki efek bakterisidal yang lebih lemah dibandingkan campuran antara alkohol dan air. Meskipun demikian, etanol pada konsentrasi 60-99% masih dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* (Ali dkk., 2001).

Heksan tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Abhishek dkk. (2013) dan

Ekwenchi dkk. (2014) yang menunjukkan bahwa heksan sebagai kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Dengan demikian, zona hambat yang dihasilkan ekstrak bukan berasal dari pelarut heksan. Larutan DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Menurut Valgas dkk. (2007), DMSO tidak memengaruhi aktivitas antibakteri sampel dan berguna sebagai larutan pembawa yang membantu sampel berdifusi dalam medium.

Uji aktivitas antibakteri perlakuan ekstrak dan kontrol menunjukkan bahwa penghambatan terhadap *E. coli* dan *S. aureus* berbeda nyata. Rata-rata zona hambat yang dihasilkan ekstrak dan kontrol lebih luas dalam menghambat *S. aureus* daripada *E. coli*. Menurut Silhavy dkk. (2010), bakteri Gram negatif lebih resistan terhadap antibiotik dibandingkan bakteri Gram positif. Hal ini disebabkan oleh membran luar sel bakteri Gram negatif yang berperan penting sebagai *protective barrier* (penghalang pelindung), mencegah molekul toksik masuk ke dalam sel dan menjadi lapisan tambahan yang menstabilkan keseluruhan sel. Bagian luar dari membran luar bakteri Gram negatif terdiri atas lipopolisakarida yang berperan penting dalam fungsi penghalang dari membran luar sel.

Menurut Expand dan Expand (2010), membran bakteri Gram negatif mengandung fosfatidiletanolamin (komponen fosfolipid pada membran) lebih banyak dibandingkan bakteri Gram positif. Komposisi fosfolipid pada membran bakteri berperan lebih penting dalam menentukan sensitifitas bakteri terhadap senyawa antimikroba dibandingkan keberadaan membran luar. Oleh sebab itu,

bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap senyawa antimikroba dibandingkan bakteri Gram negatif.

Meskipun aktivitas antibakteri yang dihasilkan ekstrak tidak berbeda nyata terhadap kontrol negatif, zona hambat yang dihasilkan ekstrak dapat berasal aktivitas antibakteri dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Menurut Maikai (2009), senyawa kimia pada tumbuhan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan menghambat sintesis dinding sel, asam nukleat, atau mencegah sintesis protein. Kandungan senyawa volatil *Neophytadiene*, *Ambrosin*, dan *6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone* pada konsentrasi tinggi dalam ekstrak etanol dan heksan daun bangle diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme antibakteri *Neophytadiene* (diterpen) dan *Ambrosin* (seskuiterpen) tidak diketahui secara pasti. Akan tetapi, diperkirakan senyawa terpen mampu merusak membran bakteri dengan senyawa lipofilik (Stefanović dkk., 2012). Sejumlah kecil terpenoid dan senyawa fenolik dalam tanaman herbal diketahui dapat menghancurkan membran luar dari bakteri Gram negatif (Ramos-Villarreal dkk., 2010).

Penentuan konsentrasi hambat minimum dilakukan terhadap ekstrak etanol daun bangle yang menghasilkan rata-rata luas zona hambat lebih luas terhadap kedua bakteri uji, meskipun zona hambat yang dihasilkan tidak berbeda nyata dengan ekstrak heksan. Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol terhadap *E. coli* sebesar 95 mg/ml, dan terhadap *S. aureus* sebesar 0,3 mg/ml (Tabel 7).

Tingginya KHM terhadap *E. coli* menunjukkan bahwa untuk menembus membran bakteri Gram negatif yang mengandung lebih banyak

fosfatidiletanolamin, diperlukan komposisi senyawa antibakteri yang lebih banyak. Hal ini dikarenakan komposisi fosfatidiletanolamin dalam jumlah banyak berakibat pada kurang sensitifnya bakteri terhadap senyawa antibakteri (Expand dan Expand, 2010).

Tabel 5. Hasil uji konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun bangle

Konsentrasi (mg/ml)	Jumlah koloni	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
0,05	-	23
0,1	-	10
0,2	-	15
0,3	-	0
0,4	-	0
0,5	-	0
1	4	0
2	2	0
4	4	0
8	17	0
16	15	0
32	10	0
64	9	0
66	2	-
68	2	-
70	2	-
75	1	-
80	1	-
82	3	-
84	1	-
86	4	-
88	4	-
90	3	-
95	0	-
100	0	0
Kontrol positif	0	0
Kontrol negatif	<i>Spreader</i>	<i>spreader</i>

Keterangan: (-) tidak dianalisis

Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol terhadap *S. aureus* sesuai dengan hipotesis yang didasarkan pada penelitian Gull dkk. (2012) yang menunjukkan bahwa rimpang jahe (*Zingiber officinale*) yang diekstrak

menggunakan etanol dengan metode maserasi memiliki KHM sebesar 0,3 mg/ml terhadap *S. aureus*. Kandungan fosfatidiletanolamin pada membran Gram positif yang lebih rendah dari bakteri Gram negatif dapat menyebabkan bakteri Gram positif sensitif terhadap senyawa antibakteri pada konsentrasi rendah (Expand dan Expand, 2010).

SIMPULAN

1) Ekstrak etanol dan heksan daun bangle mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid. Ekstrak etanol mengandung saponin, sedangkan ekstrak heksan tidak mengandung saponin. 2) Daun bangle yang diekstrak menggunakan etanol dan heksan memiliki aktivitas antibakteri yang tidak berbeda nyata dari kontrol negatif berupa larutan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), pelarut etanol, dan heksan. 3) Konsentrasi hambat minimum ekstrak daun bangle terhadap *Escherichia coli* yaitu 95 mg/ml dan konsentrasi hambat minimum terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu 0,3 mg/ml.

SARAN

Penggunaan rimpang dan daun bangle dari tanaman kurang dari 1 tahun lebih disarankan untuk memperoleh daya antibakteri yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abhishek, S., Ujwala, P., Shivani, K., dan Meeta, B. 2013. Antibacterial activity of *Tecomella undulata* leaves crude extracts. *International Journal of Biological Sciences* 2(6):60-62.
- Alasalvar, C., Hoffman, A. M., dan Shahidi, F. 2008. *Antioxidant Activities and Phytochemicals in Hazelnut (Corylus avellana L.) and Hazelnut By-Products*. Dalam Alasalvar, C. dan Shahidi, F. (ed.). 2008. *Tree Nuts: Composition, Phytochemicals, and Health Effects*. CRC Press, Boca Raton. Halaman 219.
- Ali, Y., Dolan, M. J., Fendler, E. J., dan Larson, E. L. 2001. *Alcohols*. Dalam Block, S. S. (ed.). 2001. *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. Edisi ke-5. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. Halaman 231 dan 234.

- Andrews, J. M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48: 5-16.
- Bell, A. A., El-Zik, K. M., dan Thaxton, P. M. 1992. *Chemistry, Biological Significance, and Genetic Control of Proanthocyanidins in Cotton (Gossypium spp.)*. Dalam Hemingway, R. W. dan Laks, P. E. (ed.). 1992. *Plant Polyphenols*. Plenum Press, New York. Halaman 573-574.
- Daley, R. F. dan Daley, S. J. 2013. *Organic Chemistry*. www.ochem4free.info. 30 Juli 2015.
- Denyer, S. P. dan Stewart, G. S. A. B. 1998. Mechanisms of action of disinfectants. *International Biodeterioration and Biodegradation* 41: 261-268.
- Ekwenchi, M. M., Oluigbo, J., dan Akpuaka, A. 2014. Antibacterial activity of n-hexane extract of *Ocimum gratissimum* leaves. *IOSR Journal of Applied Chemistry* 7(5): 6-10.
- Expand, R. M. Dan Expand, R. F. 2010. *Biophysical Analysis of Membrane-targeting Antimicrobial Peptides: Membrane Properties and the Design of Peptides Specifically Targeting Gram-negative Bacteria*. Dalam Wang, G. (ed.). 2010. *Antimicrobial Peptides: Discovery Design, and Novel Therapeutic Strategies*. CABI International, Cambridge. Halaman 118-119.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. *Country Report on the State of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture Indonesia*. <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/Indonesia.pdf>. 9 September 2015.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., dan Rahmat, A. 2010. Identification and concentration of some flavonoid components in Malaysian Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) varieties by a high performance liquid chromatography method. *Molecules* 15(1): 6231-6243.
- Gull, I., Saeed, M., Shaukat, H., Aslam, S. M., Samra, Z. Q., dan Athar, A. M. 2012. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobial*. 11(8): 1-6.
- Kasrina, T. V. 2014. Studi Etnobotani Tumbuhan Obat yang Dimanfaatkan oleh Masyarakat di Kecamatan Sindang Kelingi Kabupaten Rejang Lebong Bengkulu. *Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*.
- Kaushik, P. dan Goyal, P. 2011. Evaluation of Various Crude Extract of *Zingiber officinale* Rhizome for Potential Antibacterial Activity: A Study in Vitro. *Advances in Microbiology* 1: 7-12.
- Kerton, F. M. Dan Marriott, R. 2013. *Alternative Solvents for Green Chemistry*. RSC Publishing, Cambridge. Halaman 21.
- Kuntorini, E. M. 2005. Botani ekonomi suku Zingiberaceae sebagai obat tradisional oleh masyarakat di Kotamadya Banjarbaru. *Bioscientiae*. 2(1): 25-36.
- Lege, K. E. 1998. *Tannins in Cotton*. Dalam Bajaj, Y. P. S. (ed.). 1998. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 42. Springer, New Delhi. Halaman 358.
- Liu, W. J. H. 2010. *Traditional Herbal Medicine Research Methods: Identification, Analysis, Bioassay, and Pharmaceutical and Clinical Studies*. John Wiley and Sons, New Jersey.

- Lutfiyah, M. 2012. Uji Aktivitas Rimpang Bengle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Penentuan Golongan Senyawa Aktif. *Skripsi*. Sekolah Farmasi ITB, Bandung.
- Maikai, V. A. 2009. Antimicrobial Properties of Stem Bark Extracts of *Ximenia americana*. *Journal of Agricultural Science* 1(2): 30-34.
- Makkawi, A. J. J., Keshk, E. M., ElShamy, M. M., dan Abdel-Mogib, M. 2015. Phytochemical and biological evaluation of *Ambrosia maritima*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological, and Chemical Sciences* 6(4): 1678-1688.
- Muhlisah, F. 2011. *Temu-temuan dan Empon-empon*. Kanisius, Yogyakarta. Halaman 18, 19, dan 21.
- Negi, J. S., Negi, P. S., Pant, G. J., Rawat, M. S. M., dan Negi, S. K. 2013. Naturally occurring saponins: chemistry and biology. *Journal of Poisonous and Medical Plant Research* 1(1): 1-6.
- Nurikasari, D. R. 2011. Penentuan Senyawa Aktif Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode KLT Bioautografi. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Jember, Jember.
- Ogunwande, I. A., Walker, T. M., dan Setzer, W. 2007. A review of aromatic herbal plants of medicinal importance from Nigeria. *Natural Product Communications* 2(12): 1311-1316.
- Oliveros, M. B. 1996. *Preformulation Studies on Terpinen-4-ol from Zingiber purpureum* Rosc. Dalam Wu, T. L., dan Wu, Q. G (ed). *Proceedings of the Second Symposium on the Family Zingiberaceae*. Zongshan University Press, Zongshan.
- Ragasa, C. Y., Tsai, P., dan Shen, C. 2009. Antimicrobial terpenoids from *Erigeron sumatrensis*. *NRCP Research Journal* 10(1): 27-32.
- Ramos-Villaroel, A. Y., Soliva-Fortuny, R., dan Martin-Belloso, O. 2010. *Natural antimicrobials for food processing*. Dalam Hemming, D (ed.). 2011. *Animal Science Reviews 2010*. CAB International, Oxforshire. Halaman 218.
- Risnawati, E., Ainurofiq, A., dan Wartono, M. W. 2014. Study of Antibacterial Activity and Identification of the Most Active Fraction from Ethanol Extraction of *Zingiber cassumunar* Roxb. Rhizomes by Vacuum Liquid Chromatography. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 6(9): 101-107.
- Sampedro, J. dan Valdivia, E. R. 2014. *New Antimicrobial Agents of Plant Origin*. Dalam Villa, T. G. dan Veiga-Crespo, P. (ed.). 2014. *Antimicrobial Compounds: Current Strategies and New Alternatives*. Springer, New York. Halaman 102 dan 104.
- Sembiring, B. S., Rizal, M., dan Suhirman, S. 2012. *Budidaya dan Pascapanen Kumis Kucing (Orthosipon stamineus* Benth). Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, dan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Jakarta.
- Senja, R. Y., Issusilaningtyas, E., Nugroho, A. K., dan Setyowati, E. P. 2014. Perbandingan metode ekstraksi dan variasi pelarut terhadap rendemen dan

- aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea* l. var. *capitata f. rubra*). *Traditional Medicine Journal* 19(1): 43-48.
- Setiyawati, I. 2003. Studi Pemanfaatan Berbagai Jenis Tumbuhan sebagai Bahan Obat oleh para Pengobat Tradisional yang Memproduksi Obat Tradisional di Kecamatan Patianrowo Kabupaten Nganjuk Jawa Timur. *Skripsi*. Universitas Surabaya.
- Silhavy, T. J., Kahne, D., dan Walker, S. 2010. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Laboratory* 2(1): 1-16.
- Sukatta, U., Rugthaworn, P., Punjee, P., Chidchenchey, S., dan Keeratinijakal, V. 2009. Chemical Composition and Physical Properties of Oil from Plai (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Obtained bu Hydro Distillation and Hexane Extraction. *Natural Science and the Kasetsart Journal* 43: 212-217.
- Sussman, M. 1997. *Escherichia coli: Mechanisms of Virulence*. Cambridge University Press, New York. Halaman 10-11.
- Valgas, C., de Souza, S. M., Smania, E. F. A., dan Smania, A. 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology* 38: 369-380.