

Antibacterial Activity of Rhizome Extracts of *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. Against *Streptococcus pneumoniae*

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) Terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Jamilatur Rohmah^{1*}, Chylen Setiyo Rini¹, Nur Indah Nila Asri², Rika Krisdianti²

¹Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

²Mahasiswa Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

Abstract. *Streptococcus pneumoniae* is a bacterium that causes infections of the respiratory tract (ARI), in its handling in the community usually use antibiotics. Antibiotics themselves if used continuously lead to resistance. One of the plants that contain secondary metabolites that are thought to be used as antibacterial is the Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) plant. This study aimed to determine the secondary metabolite content of Lempuyang Gajah rhizome and to determine the antibacterial activity of lempuyang extract on *Streptococcus pneumoniae* bacteria. The method used in this research is the diffusion method with paper discs to determine the inhibitory power. The lempuyang plants used were obtained from the village of Tegal Bulu Banyuwangi and isolates of *S. pneumoniae* ATCC 49619 were obtained from the Central Health Laboratory (BBLK) Surabaya. The concentrations of the extracts used were 20, 40, 60, 80, and 100% with a positive control of chloramphenicol. The data obtained was then carried out with One Way Anova statistical test. The results showed that the phytochemical test of the ethanol extract of lempuyang elephant (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) contained alkaloids, flavonoids, saponins, steroids, triterpenoids, phenolics, and tannins. The ethanolic extract of lempuyang elephant (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) can inhibit the growth of the bacteria *S. pneumoniae* ATCC 49619 known from the inhibition zone formed. The results of the inhibitory test showed that the higher the concentration of the elephant lempuyang extract, the larger the diameter of the inhibitor formed. In lempuyang Gajah, the highest mean inhibition diameter was found at a concentration of 100% at 43.9 ± 3.6 mm. The results of the One Way Anova statistical test showed that there was a significant effect ($p < 0.05$) between the elephant lempuyang extract on the *Streptococcus pneumoniae* bacteria. This indicates that the ethanolic extract of the lempuyang elephant rhizome has antibacterial activity against *Streptococcus pneumoniae* bacteria.

Keywords: Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.), antibacterial, *S. pneumoniae*, disc diffusion, zone of inhibition

Abstrak. *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri penyebab infeksi pada saluran pernafasan (ISPA), dalam penanganannya di masyarakat biasanya menggunakan obat-obatan antibiotik. Antibiotik sendiri jika digunakan secara terus menerus mengakibatkan resistensi. Salah satu tanaman yang memiliki kandungan metabolit sekunder yang diduga dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri yaitu tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder rimpang lempuyang gajah dan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak lempuyang pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi dengan kertas cakram untuk mengetahui daya hambat. Tanaman lempuyang yang digunakan diperoleh dari desa Tegal Bulu Banyuwangi dan isolat *S. pneumoniae* ATCC 49619 diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 % dengan kontrol positif kloramfenikol. Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji statistik *One Way Anova*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji fitokimia ekstrak etanol lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan

tannin. Ekstrak etanol lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.pneumoniae* ATCC 49619 diketahui dari zona hambat yang terbentuk. Pada hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak lempuyang gajah semakin besar juga diameter hambat yang terbentuk. Pada lempuyang gajah diameter hambat rerata yang paling tinggi terdapat pada konsentrasi 100 % sebesar $43,9 \pm 3,6$ mm. Hasil uji statistik *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) antara ekstrak lempuyang gajah terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

Kata-kata kunci: Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.), antibakteri, *S.pneumoniae*, difusi cakram, zona hambat

1. Pendahuluan

Lempuyang (*Zingiber* spp.) merupakan spesies dari *Zingiber* yang telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat lokal Indonesia sebagai obat tradisional khususnya sebagai bahan jamu [1,2], untuk mengobati asma, pneumoniae, anti inflamasi, antivirus, antibakteri, imunomodulator, dan lain-lain [3,4,5]. Sebagai bahan obat tradisional lempuyang gajah lebih sering digunakan dibandingkan dengan lempuyang lainnya [2], sehingga dalam penelitian ini lebih difokuskan pada lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.).

Zingiber zerumbet (L.) Roscoe ex Sm. diketahui memiliki khasiat obat tertentu seperti anti-inflamasi [6], anti tumor [7], anti alergi [8], anti piretik [9], anti aktivitas agregasi platelet [10], dan antibakteri [11]. Tanaman ini dilaporkan mengandung sesquiterpenoid, flavonoid, senyawa aromatik, vanilin, turunan kaempferol dan senyawa polifenol lainnya [12,13,14]. Senyawa polifenol dilaporkan memiliki beberapa efek biologis termasuk aktivitas antioksidan dan antibakteri [15]. Senyawa polifenol adalah cincin benzena aromatik dengan gugus hidroksil tersubstitusi dan merupakan metabolit sekunder, ada di mana-mana di kerajaan tumbuhan [16]. Sebagai antibakteri, salah satu bakteri patogen yaitu *Streptococcus pneumonia* yang dapat menyebabkan penyakit pneumococcal disease.

Pneumonia oleh pneumokokus terjadi akibat gagalnya mekanisme protektif yang mencegah akses pneumokokus ke alveoli dan bereplikasi. Gejala yang paling umum pada pneumonia adalah demam, batuk, dan sesak napas. Penyakit pneumonia adalah infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli). Penyakit ini disebabkan oleh virus, bakteri, parasit, jamur. Bakteri yang menjadi penyebab pneumonia adalah *Streptococcus pneumonia*, *Haemophilus influenza* [17]. Pneumonia adalah inflamasi yang mengenai parenkim paru, distal dari bronkiolus terminalis yang mencakup bronkiolus respiratorius, alveoli yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur [18]. Penyebaran penyakit pneumonia sangat cepat karena penularannya melalui udara (air-borne) [19].

S. pneumoniae adalah flora normal pada mukosa saluran pernafasan bagian atas. Bakteri ini dapat mengolonisasi nasofaring bersama dengan bakteri lain [20]. *S. pneumoniae* yang mengolonisasi nasofaring dapat berpindah ke jaringan dan organ lain sehingga menyebabkan penyakit [21]. Kolonisasi *S. pneumoniae* dapat menyebarkan secara horizontal pada suatu komunitas. Jika salah satu anggota keluarga terjangkit *S. pneumoniae* maka pada kondisi tertentu dapat ditransmisikan ke anggota keluarga lainnya [22].

Berdasarkan data yang dipaparkan World Health Organization [23], kasus pneumonia mengalami peningkatan prevalensi 2,1% pada tahun 2007 menjadi 2,7% pada tahun 2013. Berdasarkan kelompok umur, peningkatan prevalensi terjadi pada umur 45-54 tahun dan masih terus meningkat di umur selanjutnya. Pneumonia banyak terjadi pada 450 juta orang pertahun. Di dunia angka kejadian pneumonia tercatat 9,2 juta jiwa meninggal dalam periode 1 tahun diseluruh dunia, 92% dari total kasus yang telah tercatat ditemukan pada benua Asia dan Afrika [24].

Prevalensi pengidap pneumonia berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan (nakes) di Indonesia tahun 2013 mencapai 1,6 %, sedangkan pada tahun 2018 meningkat menjadi 2,0 % [25]. Jadi sedari tahun 2013 dan 2018 penyakit pneumonia mengalami peningkatan sebanyak 0,4 % seperti yang dijelaskan pada data diatas. Data Riset Kesehatan Dasar tahun 2013 menyebutkan, prevalensi pneumonia pada usia lanjut mencapai 15,5%, sementara itu laporan Data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 menyebutkan penderita pneumonia segala umur mencapai 2,21%, pada usia 54-64 tahun mencapai 2,5%, usia 65-74 tahun sebanyak 3,0% dan 75 tahun keatas mencapai 2,9%, jika dirata-ratakan, maka penderita pneumonia usia

lanjut adalah 2,8% [26,27]. Pada tahun 2018, kasus pneumonia di Kabupaten Sidoarjo pada balita yang ditemukan sebanyak 8.539. Penemuan kasus pneumonia pada balita dan jumlah kasus yang ditangani dari tahun 2016 sampai dengan tahun 2017 terjadi kenaikan sebesar 22,1% [25].

Penelitian sebelumnya tentang sifat antibakteri *Z. zerumbet* menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Z. zerumbet* secara kandungan fitokimia mampu menghambat antibakteri dan antijamur yaitu pada konsentrasi 400 µg/disc, semua sampel menunjukkan aktivitas antibakteri dan antijamur ringan hingga sedang dan menghasilkan zona hambat mulai dari 6 mm hingga 10 mm. Di antara sampel yang diuji, ekstrak etanol kasar menunjukkan aktivitas tertinggi terhadap *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*). Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol kasar dan fraksinya berada pada nilai 128-256 µg/mL terhadap dua bakteri Gram positif dan empat Gram negatif dan semua sampel menunjukkan nilai MIC terendah terhadap *V. parahaemolyticus* (128 µg/mL) [11]. Namun belum banyak penelitian yang dilakukan terhadap daya hambat bakteri *Streptococcus pneumoniae* serta perlu dilakukan eksplorasi kandungan metabolit sekunder dan potensi tanaman lempuyang gajah yang diperoleh dari desa Tegal Bulu Banyuwangi, dimana kondisi tumbuh tanaman memberikan pengaruh terhadap kandungan metabolit sekunder dan potensi tanaman.

Oleh karena itu, kapasitas antibakteri *Z. zerumbet* membutuhkan studi lebih lanjut terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dengan metode difusi cakram dan kandungan metabolit sekundernya. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian yaitu antibiotik kloramfenikol yang tersedia secara komersial (30 µg/disc) digunakan sebagai *disc standard* dan *disc* kosong yang diresapi dengan pelarut.

2. Metode

a. Alat dan Bahan

1) Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) yang didapat dari Tegal Bulu Banyuwangi, etanol (teknis), kloroform, pereaksi Mayer (HgCl₂, aquadest), pereaksi Dragendorff (KI, aquadest, bismut subnitrat, asam asetat glasial), pereaksi Wagner (I₂, KI, aquadest), ammonia, H₂SO₄, serbuk Mg, HCl pekat, butanol, CH₃COOH glasial, HCl 2N, FeCl₃ 10%, NaCl 10%, NH₄OH pekat, Na₂CO₃ 2%, SbCl₃, etanol 70% (teknis), etanol 70%, CHCl₃, DMSO, isolat *S. pneumonia* ATCC 49619 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya, antibiotik kloramfenikol, aquades, etanol 70%, larutan *Mc farland* 0,5 (BaCl 1% 0,05mL dan H₂SO₄ 1%, 9,95 mL), media MBA, media MHA, dan media NA. Reagen yang digunakan adalah reagen p.a kecuali disebutkan lain.

2) Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Loyang, plastik, pisau, blender, ayakan, alat-alat gelas, *rotary vacuum evaporator*, 1 set kromatografi lapis tipis (KLT), silika gel F₂₅₄, label, labu ukur 10 mL, kertas saring, corong, aluminium foil, beaker glass, gelas ukur pipet maat, bulb, corong, batang pengaduk, sendok zat, ose loop, Erlenmeyer, tabung reaksi, pipet tetes, incubator, neraca analitik, cawan petri.

b. Prosedur

1) Identifikasi Tanaman

Tanaman lempuyang gajah yang akan digunakan diidentifikasi terlebih dahulu di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan (BKT) Kebun Raya "Eka Karya", Tabanan, Bali untuk mengetahui taksonominya. Pengidentifikasian bahan baku ini dilakukan dengan mengirim tumbuhan lempuyang gajah dari bagian akar hingga bunga.

2) Pembuatan simplisia rimpang lempuyang

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lempuyang yang segar sebanyak 8000 gram. Kemudian rimpang dicuci hingga bersih dalam air mengalir dan dikeringkan di bawah sinar matahari tidak langsung. Rimpang kering selanjutnya dihaluskan dan diperoleh serbuk rimpang lempuyang gajah (serbuk simplisia). Serbuk rimpang kemudian disimpan dalam wadah tertutup.

3) Ekstraksi maserasi rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.)

Serbuk rimpang lempuyang gajah ditimbang sebanyak 800 gram lalu ditambahkan dengan pelarut etanol (1:2) dan diaduk menggunakan batang pengaduk. Kemudian dimaserasi selama 24 jam. Hasil maserasi lalu disaring dan didapatkan filtrat hasil perendaman. Residu dilakukan remaserasi sampai diperoleh hasil ekstrak yang berwarna jernih. Selanjutnya filtrat dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Selanjutnya % rendemen dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \quad (1)$$

4) Uji Skrining Fitokimia

Uji Kualitatif Fitokimia dilakukan dengan mengacu pada [28] dengan prosedur sebagai berikut:

Tanin (Pereaksi FeCl₃)

Ekstrak etanol rimpang lempuyang sebanyak 1 ml dipanaskan selama beberapa menit. Kemudian ditambahkan FeCl₃ 1% beberapa tetes.

Alkaloid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan kloroform dan NH₃. Lalu dipanaskan di atas penangas air. Ditambahkan 1 tetes H₂SO₄ pada masing-masing tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan pereaksi Mayer. Tabung kedua ditambah pereaksi Wagner. Sedangkan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Dragendroff.

Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan ke dalam 3 ml etanol 70% kemudian dikocok, dipanaskan dan dikocok kembali. Lalu disaring dan diambil filtratnya. Filtrat ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 gram dan 3 tetes HCl pekat.

Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambah 10 ml aquades dan dididihkan dalam penangas air. Kemudian campuran tersebut dikocok dan dibiarkan 15 menit.

Steroid

Sampel 1 ml masing-masing ditambahkan 3 ml etanol 70% dan 2 ml H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH.

Triterpenoid (Uji Liebermann-Burchard)

Ekstrak maserasi sebanyak 1 ml ditambahkan 2 ml kloroform dan 3 ml H₂SO₄ pekat.

Fenolik

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan NaCl 1% dan gelatin 10%.

5) Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode *Disc Diffusion Kirby-Bauer*

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi modifikasi Kirby-Bauer yang terstandarisasi oleh NCCLS Media yang digunakan menggunakan *agar Mueller-Hinton*. Koloni bakteri diambil, sebanyak 3-5 koloni. Suspensi inoculum disiapkan dan distandarisasi. Turbiditas suspensi harus sesuai dengan standar *0.5 McFarland*. Cawan yang berisi media MHA diinokulasikan dengan cara mencelupkan *cotton bud* steril ke dalam inoculum. Inokulum berlebih disingkirkan dengan menekan dan memutar *cotton bud* kuat-kuat pada sisi tabung di atas batas cairan. *cotton bud* digoreskan ke seluruh permukaan media tiga kali, dengan memutar cawan petri dengan sudut 60° setiap pengolesan. Inokulum dibiarkan mengering selama beberapa menit pada suhu ruang dengan cawan tertutup. Cakram antimikroba diletakkan pada cawan petri yang telah diinokulasi dengan menggunakan sepasang penjepit steril. Setelah diinkubasi semalaman, diameter tiap zona (termasuk diameter cakram) diukur dan dicatat dalam mm. Hasil diinterpretasikan menurut diameter kritis. Titik akhir hambatan dinilai dengan mata telanjang pada tepi tempat pertumbuhan dimulai

6) Analisis Statistik

Data skrining fitokimia dianalisis secara deskriptif kuantitatif, sedangkan jumlah dan zona hambat *Streptococcus pneumonia* dianalisis menggunakan ANOVA melalui program SPSS.

3. Hasil dan Pembahasan

Identifikasi Tanaman

Hasil pengujian identifikasi tanaman yang dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), BKT Kebun Raya “Eka Karya”, Tabanan, Bali, menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah lempuyang gajah dengan nama latin *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.

Uji Skrining Fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.)

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil (Terbentuknya)	Kesimpulan (+) / (-)
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+++
	Wagner	Endapan coklat	+++
	Dragendorf	Endapan jingga	+
Flavonoid	Mg + HCl _{pekat} + etanol	Warna merah	++
Saponin	-	Adanya busa stabil	+++
Steroid	Liebermann-Burchard	Ungu ke biru/hijau	++
Triterpenoid	Kloroform+H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	+++
Fenolik	NaCl 10% + Gelatin 1%	Endapan putih	+++
Tanin	FeCl ₃ 1%	Coklat kehijauan	+++

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. menggambarkan berbagai senyawa kimia yang bermanfaat, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tannin. Hal ini sesuai dengan sumber yang menyatakan bahwa di dalam lempuyang gajah mengandung seskuiterpenoid, flavonoid, senyawa aromatik, vanilin, turunan kaempferol dan senyawa polifenol lainnya [12,13,14]. Serta pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pada tanaman *Zingiber zerumbet* yang diperoleh dari UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur, yang diekstraksi dengan pelarut etanol 70% memiliki kandungan senyawa netabolit sekunder jenis saponin, tanin, dan triterpenoid. Sedangkan pada ekstraksi dengan pelarut etanol 95% diperoleh kandungan tanin, triterpenoid, dan flavonoid [29]. Perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman *Zingiber zerumbet* ini dipengaruhi oleh kondisi tumbuh tanaman (habitat, iklim, dll).

Temuan pada hasil fitokimia ini menunjukkan bahwa *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. memiliki sifat sebagai fitobiotik, didukung oleh teori-teori sebelumnya, dimana efek positif dari fitobiotik terutama terkait dengan konstituen tanaman termasuk terpenoid (monoterpenoid, seskuiterpen, dan steroid), fenolik (tanin), glikosida, alkaloid (seperti alkohol, aldehida, keton, ester, eter, dan lakton), flavonoid dan glukosinolat [30,31]. Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan pelarut polar etanol 70% yang merupakan pelarut yang cocok untuk mengekstraksi senyawa aktif dari *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. Mekanisme senyawa aktif sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu proses biokimia sel bakteri, antara lain penghambatan sintesis dinding sel, fungsi membran sel, dan sintesis protein. Alkaloid, terpenoid, dan tanin telah berhasil diekstraksi dari rimpang *Z. zerumbet* dengan etanol, hal ini memiliki arti penting bahwa ketiga senyawa tersebut efektif sebagai antibakteri untuk menekan pertumbuhan bakteri Gram negatif, karena dinding sel bakteri terdiri dari lipopolisakarida polar (LPS) [32].

Alkaloid yang berhasil diekstraksi dari rimpang *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. diduga berupa garam, seperti yang dikemukakan pada literatur sebelumnya, alkaloid terikat dengan asam organik yang terdapat pada tumbuhan, seperti asam suksinat, maleat, mekonat, kinic, dan bersifat larut dalam etanol atau pelarut air [33,34]. Ekstrak etanol dari *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. mengandung steroid, menurut penelitian sebelumnya bahwa saponin dikelompokkan menjadi steroid dan triterpen, yang merupakan larut dalam air, tidak larut dalam eter [33,35]. Saponin triterpen biasanya bersifat asam karena mengandung satu atau dua karbonil kelompok dalam aglikon, dan itu adalah alkohol, aldehida atau asam karboksilat [36].

Flavonoid dalam *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. dapat diasumsikan bahwa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak berupa glikosida, mungkin sebagai flavonoid-O-glikosida atau flavonoid-C-glikosida, terikat pada gula. Senada dengan pernyataan pada teori bahwa flavonoid merupakan senyawa polifenol, hadir dalam dua bentuk yaitu aglikon, bersifat kurang polar (isoflavan, flavanon, flavonoid dan flavon termetilasi), hanya larut dalam senyawa polaritas rendah, seperti kloroform dan eter, tetapi dapat juga dalam bentuk glikosida polar, sehingga mudah larut dalam pelarut polar, seperti etanol [33,34]. Beberapa jenis flavonoid yang terkandung dalam ekstrak rimpang *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. termasuk quercetin, kaempferol, catechin, dan myricetin [37].

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Disc Diffusion Kirby-Bauer

Uji aktivitas antibakteri dilakukan melalui beberapa tahapan meliputi peremajaan bakteri uji, pembuatan suspensi bakteri uji, pembuatan variasi konsentrasi ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah, serta persiapan kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (DMSO 10%). Bakteri yang akan diuji diremajakan terlebih dahulu dengan tujuan untuk memperoleh bakteri yang aktif. Bakteri dari kultur murni diremajakan pada media BA (*blood agar*). Proses peremajaan bakteri ini sangat erat kaitannya dengan siklus pertumbuhan bakteri, karena bakteri yang digunakan untuk pengujian sebaiknya adalah bakteri yang berada pada fase logaritmik, jumlah bakteri yang meningkat terjadi secara eksponensial. Fase ini berlangsung 18-24 jam. Pada pertengahan fase ini pertumbuhan bakteri sangat ideal, dimana pembelahan terjadi secara maksimal [38].

Kloramfenikol 15 ug/disk digunakan sebagai kontrol positif karena antibiotik yang sensitif terhadap bakteri *Streptococcus pneumonia* [39]. Kontrol positif kloramfenikol memberikan hasil daerah hambat sebesar 31 mm (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa kloramfenikol masih sensitif terhadap *S. pneumonia* ATCC 49619. Hasil ini diinterpretasikan berdasarkan tabel interpretasi zona hambat antibiotik. Kloramfenikol berdasarkan tabel standar CLSI dikatakan sensitif jika zona hambat yang dihasilkan > 18 mm, intermediet 13-17 mm, dan resisten < 12 mm. Ukuran zona hambat yang sangat besar ini menunjukkan bahwa antibiotik kloramfenikol bersifat bakterisid, yaitu membunuh bakteri dan bukan hanya menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerja antibiotik kloramfenikol yaitu dengan menghambat pembentukan protein bakteri melalui pengikatan secara terbalik ke subunit 50S ribosom dan menghambat enzim peptidil transferase sehingga ikatan peptid tidak terbentuk [40].

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah memiliki daya hambat yang kuat (konsentrasi 20 & 40 %) dan sangat kuat (konsentrasi 60, 80, dan 100 %). Dan kloramfenikol memiliki daya hambat yang sangat kuat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang lempuyang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pneumonia* ATCC 49619. Hasil penelitian ini selaras dengan penelitian sebelumnya bahwa antibiotik kloramfenikol memiliki daya hambat sebesar 13,25 mm terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dengan kategori daya hambat intermediet [41], namun pada penelitian ini diperoleh hasil yang lebih tinggi yaitu sebesar 37.68±1.21 mm.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.)

Sampel	Konsentrasi (%)	Daya Hambat (mm)					Rata-rata Daya Hambat (mm)
		1	2	3	4	5	
Ekstrak Lempuyang Gajah	20	11.3	11.8	11.5	12.1	11.7	11.68 ± 0.30
	40	17.5	17.4	18.6	18.1	17.9	17.90 ± 0.48
	60	26.0	26.3	23.4	23.5	24.8	24.80 ± 1.35
	80	37.9	39.7	30	35.2	35.7	35.70 ± 3.66
	100	47.7	40.3	40.3	47.5	43.9	43.94 ± 3.65
Kontrol (+)		38.0	36.9	38.8	36.0	38.7	37.68 ± 1.21
Kontrol (-)		0	0	0	0	0	0.00

Bakteri *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang tebal dan umumnya disusun oleh peptidoglikan [42]. Peptidoglikan pada bakteri gram positif berisi suatu jembatan antar peptide [43]. Sebagian besar bakteri gram positif memiliki suatu lapisan protein-protein pada permukaan peptidoglikan dinding sel [44]. Protein-protein ini terlibat dalam interaksi antara sel dan lingkungannya. Beberapa melekat secara nonkovalen dengan mengikat ke peptidoglikan, asam teikoik, dan reseptor-reseptor lainnya [45]. Struktur dinding sel streptokoki grup A disusun oleh unit *N-acetylmuramic acid* dan *N-acetylglucosamine acid*. Dinding sel streptokoki grup A juga tersusun oleh beberapa protein struktural. Pada kelompok ini, protein-protein M bertanggung jawab secara jelas dalam faktor-faktor yang diasosiasikan dengan resistensi terhadap fagositosis [42,43].

Hasil pemeriksaan skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanolik rimpang lempuyang gajah mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tannin. Menurut berbagai hasil penelitian menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri. Zat antibakteri pada suatu organisme berbentuk metabolit sekunder pada golongan senyawa turunan fenol, polipeptida, alkaloid, dan terpen tetapi senyawa yang paling kuat sebagai antibakteri adalah senyawa turunan dari fenol seperti asam fenolat, flavonoid, dan tannin [45].

Kandungan senyawa fenol dan turunannya yang ada pada ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah memiliki kinerja sebagai antibakteri yaitu dapat mendenaturasi protein dan kematian sel yang juga dapat menyebabkan koagulasi protein dan merusak membran plasma, hal ini karena senyawa fenol dan turunannya memiliki sifat bakteriosidal dan bakteriostatik [46]. Bakteriosidal adalah mekanisme kerja antibakteri yang dapat membunuh sel bakteri, sedangkan bakteriostatik adalah mekanisme kerja antibakteri yang kerjanya hanya menghambat pertumbuhan sel bakteri namun tidak dapat membunuh bakteri tersebut [47].

Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antibakteri yaitu dapat menggumpalkan protein yang terdapat pada ribosom. Protein merupakan zat makanan berupa asam-asam amino yang berfungsi sebagai pembangun dan pengatur bagi tubuh bakteri, memiliki peran dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang selanjutnya akan terjadi penggumpalan protein dan penghambatan proses pembentukan DNA dan RNA [48]. Flavonoid memiliki kemampuan dalam merusak membran sel karena memiliki sifat lipofilik yaitu mampu merusak lapisan lipid pada bakteri dengan membentuk ikatan kompleks sehingga menyebabkan kerusakan membran sel [49].

Kandungan senyawa fenol dapat bermanfaat sebagai antibakteri yaitu mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lipid pada membran sel bakteri sehingga menyebabkan turunya kemampuan membran sel [50]. Senyawa fenol juga memiliki kemampuan mendenaturasi protein dan mengganggu fungsi membran sel sebagai lapisan yang selektif dan menyebabkan sel lisis, dengan mekanismenya membentuk ikatan kompleks dengan membran plasma sehingga membran plasma yang selektif akan membuka dan mengalami kebocoran [51].

Mekanisme kompleks fenol dalam menghambat bakteri sendiri yakni pada kadar rendah fenol akan membentuk ikatan hidrogen dengan protein yang ada pada dinding sel bakteri melalui proses absorpsi. Sehingga terbentuk ikatan kompleks protein-fenol meskipun dengan ikatan yang lemah tapi hal ini mengakibatkan terjadinya penguraian yang diikuti meleburnya fenol ke dalam sel yang menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan presipitasi protein. Jika kadar fenol tinggi maka dapat menyebabkan terjadinya koagulasi membran sel dan protein yang selanjutnya akan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri sehingga menimbulkan kebocoran konstituen sel dan kematian bakteri [52,53,54].

Senyawa tanin yang terkandung dalam ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah berfungsi sebagai antibakteri yaitu dengan mengaktifkan adhesi sel mikroba, serta mengaktifkan enzim, dan juga mengganggu metabolisme transport protein pada lapisan sel yang dalam [30]. Senyawa tanin juga mampu mengganggu kinerja polipeptida dinding sel, menyebabkan terganggunya pembentukan dinding sel, dapat menyebabkan sel bakteri lisis karena terjadi tekanan osmotik dan fisik, serta dapat menyebabkan kematian pada bakteri [38].

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) kemudian dilakukan uji statistik *One Way Anova*. Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan ($p < 0.05$) antara ekstrak lempuyang gajah terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

4. Kesimpulan

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tannin. Ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah memiliki daya hambat yang kuat (konsentrasi 20 & 40 %) dan sangat kuat (konsentrasi 60, 80, dan 100 %). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang lempuyang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

5. Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada program Hibah RisetMu Batch V Majelis Diktilitbang PP Muhammadiyah yang telah mendanai penelitian ini, Laboratorium TLM Fikes Umsida dan Laboratorium Kimia Organik Unesa sebagai penunjang metode dan fasilitas laboratorium yang digunakan dalam penelitian, tim penelitian Lempuyang, serta kepada berbagai pihak yang membantu pelaksanaan penelitian.

6. Referensi

- [1] Burkill HI. *Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. Ministry of Agriculture and Coop, Kuala Lumpur, Malaysia. 1996.
- [2] de Guzman CC, and Siemonsma JS. *Spices Plant Resources of South-East Asia*. Backhuys Publishers, Leiden. 1999.
- [3] Iswantini D, Silitonga RF, Martatilofa E, and Darusman LK. *Zingiber cassumunar, Guazuma ulmifolia, and Murray paniculata* Extracts as Antiobesity: In Vitro Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. *Hayati J.Biosci*. 18 (1). 2011. 6-10.
- [4] Jantan I, Salleh M, Yassin M, Chin CB, Chen LL, Sim NL, Salleh M, Yassin M, Chin CB, Lee L, Jantan I, Salleh M, Yassin M, Chin CB, Chen LL, Sim NL. Antifungal activity of the essential oils of nine zingiberaceae species antifungal activity of the essential oils of nine zingiberaceae species. *Pharm. Biol*. 41 (5). <https://doi.org/10.1076/phbi.41.5.392.15941>. 2008. 392–397.
- [5] Kaewchoothong A. Preparation and quality control of Zingiber cassumunar extract with high-yielded anti-inflammatory active compounds [Prince of Songkla University]. <https://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2016/10342/1/345242.pdf>. 2009.
- [6] Nhareet S, Nur S. Anti inflammatory property of ethanol and water extracts of *Zingiber zerumbet*. *Indian J Pharmacol*; 35(3). 2003. 181.
- [7] Huang GC, Chien TY, Chen LG, Wang CC. Antitumor effects of ^[SEP]zerumbone from *Zingiber zerumbet* in P-388D1 cells in vitro and in ^[SEP]vivo. *Planta Med*; 71(3):219-224
- [8] Tewtrakul S, Subhadhirasakul S. Anti-allergic activity of some selected ^[SEP]plants in the Zingiberaceae family. *J Ethnopharmacol*; ^[SEP]109(3). 2007. 535-538.
- [9] Somchit NM, Shukriyah NMH, Bustamam AA, dan Zuraini A. Antipyretic and Analgesic Activity of *Zingiber zerumbet*. *International Journal of Pharmacology*. Vol.1, No.3. 2005. 277-280.
- [10] Jantan I, Rafi I, Jalil J. Platelet-activating factor (PAF) receptor-binding antagonist activity of Malaysian medicinal plants. *Phytomedicine*; 12(1). 2005. 88-92
- [11] Kader G, Nikkon F, Rashid MA, Yeasmin T. Antimicrobial activities of the rhizome extract of *Zingiber zerumbet* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2011. 409-412.
- [12] Jang DS, Han AR, Park G, Jhon GJ, Seo EK. Flavonoids and aromatic compounds from the rhizomes of *Zingiber zerumbet*. *Arch Pharmacol* ^[SEP]Res; 27(3). 2004. 386-389
- [13] Jang DS, Seo EK. Potentially bioactive two new natural ^[SEP]sesquiterpenoids from the rhizomes of *Zingiber zerumbet*. *Arch* ^[SEP]Pharmacol Res; 28(3). 2005. 294-296.
- [14] Chien T, Chen L, Lee C, Lee F, Wang C. Anti-inflammatory ^[SEP]constituents of *Zingiber zerumbet*. *Food Chem*; 110(3). 2008. 584-589.
- [15] Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic ^[SEP]compounds. *J Agric Food Chem*; 47(10). 1999. 3954-3962.
- [16] Lin LZ, Harnly JM. A screening method for the identification of glycosylated flavonoids and other phenolic compounds using a standard analytical approach for all plant materials. *J Agric Food* ^[SEP]Chem; 55(4). 2007. 1084-1096.
- [17] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Profil kesehatan Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018.
- [18] Sari MP, & Cahyati WH. Tren Pneumonia Balita di Kota Semarang Tahun 2012-2018. *Higeia Journal Of Public Health*. 3(3). 2019. 407–416.

- [19] WHO. *Traditional medicine*. (serial online). Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>. 2020.
- [20] Kadioglu A, Weiser JN, Paton JC, Andrew PW. The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and disease. 6(April). 2008. 288–301.
- [21] Nonmark-Henriques B, Toumanen EI. The pneumococcus: Epidemiology microbiology, and pathogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 3. 2013. a010215
- [22] Bogaert D, De Groot R, Hermans PWM. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*.;4(3). 2004. 144–54.
- [23] World Health Organization. *Pneumoniae*. World Health Organization. 2015.
- [24] World Health Organization. *Pneumoniae*. World Health Organization. 2016.
- [25] Kemenkes RI. Profil kesehatan kabupaten Sidoarjo tahun 2018. Dinas Kesehatan Kabupaten Sidoarjo. 2018.
- [26] Kemenkes RI. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). Jakarta: Balitbang Kemenkes RI. 2013.
- [27] Kemenkes RI. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). Jakarta: Balitbang Kemenkes RI. 2018.
- [28] Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M, dan Kurniadi B. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press. 2008. Hal. 23, 47.
- [29] Rahayu ID, Widodo W, Prihartini I, Winaya A. Antibacterial activity of ethanolic extracts from Zingiber zerumbet rhizome against *Salmonella* spp. *Biodiversitas*, 20, 1. 2019. 3322-3327.
- [30] Chang CJ, Tzeng T, Liou S, Chang Y, Liu I. Acute and 28-day subchronic oral toxicity of an ethanolic extract of Zingiber zerumbet (L.) Smith in rodents. *Evid-Based Compl Altern Med* 2012: 608284. DOI: 10.1155/2012/608284. 2012.
- [31] Diaz-Sanchez S, D'Souza D, Biswas D, Hanning I. Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Pollut Sci J* 94. 2015. 1419-143024 Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Mikrobiologi Kedokteran*, Jawetz, Melnick, & Adelberg, EGC, Jakarta. 2008.
- [32] Huang Q, Liu X, Zhao G, Hu T, Wang Y. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Anim Nutr* 4 (2):. 2018. 137-150. DOI: 10.1016/j.aninu.2017.09.004.
- [33] Hanani E. Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. 2014.
- [34] Harborne JB. Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan Kedua. Cetakan Keempat. Penerbit ITB, Bandung. 2006.
- [35] Leland JC. Natural products from plants. 2nd eds. CRC Press, Boca Raton, FL. 2006.
- [36] Sirait M. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Penerbit ITB, Bandung. 2007.
- [37] Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Ashkani S, Rahmat A, Juraimi AS, Puteh A, Mohamed MMT. Variation in secondary metabolite production as well as antioxidant and antibacterial activities of Zingiber zerumbet (L.) at different stages of growth. *BMC Complement Altern Med* 16. 2016. 104. DOI: 10.1186/s12906-016-1072-6
- [38] Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Mikrobiologi Kedokteran*, Jawetz, Melnick, & Adelberg, EGC, Jakarta. 2008.
- [39] Zafar A, Hasan R, Nizamuddin S, Mahmood N, Mukhtar S, Ali F, Morrissey I, Barker K, Torumkuney D. Antibiotic susceptibility in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pyogenes* in Pakistan: a review of results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2022-15. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vol.71. (1). 2016. i103-i109.
- [40] Tjay TH, Rahardja K. Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya. Jakarta. PT Elex Media Komputindo. 2015. 523-531.
- [41] Shaw C. Efektivitas In-Vitro Ampisilin, Kloramfenikol, dan Kombinasinya Terhadap *Streptococcus pneumoniae*. Tesis. Fakultas Kesehatan. Universitas Kristen Maranatha. 2017.
- [42] Todar K. *Flora Normal Bakteri Pada Manusia*. Jakarta: Binapura Aksara. 2011.
- [43] Safrida YD, Yulvizar C, dan Devira CN. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Berpotensi Probiotik Pada Ikan Kembung (*Rastrelliger sp.*). *Depik*. Vol. 1(3). 2011. 200- 300.

- [44] Suharjono, Yuniati T, Sumarno, dan Semedi SJ. Studi Penggunaan Antibiotika pada Penderita Rawat Inap Pneumonia (Penelitian Di Sub Departemen anak Rumkital DR. Ramelan Surabaya). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 6 (3). 2009. 142- 155.
- [45] Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* Vol. 12, No. 4. 1999. 564–82.
- [46] Pelczar MJ, Chan ECS. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. UI Press, Jakarta. 2008.
- [47] Dzen, Sjoekoer M. *Bakteriologi Medik*, Ed. 1. Malang. Bayumedia Publishing. 2003. 187-197 & 223-234.
- [48] Chusnie T. dan Lamb AJ. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Vol. 26(1). 2005. 343–356.
- [49] Rahayu T. Deteksi Senyawa Isoflavon Daidzein dan Genistein pada Kultur In-Vitro Kalus Kedelai (*Glycyne Max Merr*). Berk Penel Hayati. 18. 2012. 75-78.
- [50] Sabir A. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (In vitro), *Dent. J.*, 38(3). 2005. 135-141.
- [51] Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Medical Microbiology*. Edisi ke-25. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, editors. New York: McGraw Hill Medical. 2010.
- [52] Handajani J, Regina TC. Pengaruh daya antibakteri ekstrak daun teh segar (*Camellia sinensis*) terhadap *Streptococcus alpha*. *Journal of the Indonesian dental association*. 50 (2). 2000. 14-21.
- [53] Adriana Soto-Vaca, Ashley Gutierrez, Jack N. Losso, Zhimin Xu, dan John W. Finley.. Evaluation of Phenolic Compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Technology*. US: Lousiana State University. 2012.
- [54] Puspitasari I. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) J. E. Smith) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. *Skripsi thesis*. Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2011.