 https://doi.org/10.29313/bcsp.v2i2.3120

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Salsabilla Permana Putri [*], Sri Peni Fitrianingsih, Siti Hazar

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

[*]salsabillapp@gmail.com, spfitrianingsih@gmail.com, sitihazar1009@gmail.com

Abstract. Infectious diseases are a major public health problem for developed and developing countries. One of the causes of infection is bacteria. Black bangle contains chemical compounds with pharmacological effects that have potential as antibacterial. This study aims to determine the potential of black bangle rhizome (Zingiber ottensii (Val.)) as an antibacterial and to determine the value of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) on the growth of Staphylococcus aureus bacteria. The research was conducted experimentally in a laboratory with the stages of collecting materials, determining plants, making simplicia, standardizing simplicia, screening for phytochemical simplicia and extracts, extracting, testing antibacterial activity, and determining the value of Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Antibacterial activity test by agar diffusion method with well with positive control group (tetracycline), negative control (methanol), and test group (extract at concentrations of 40%, 20%, 10%, and 5% w/v). Based on the research conducted, the results showed that the methanol extract of black bangle rhizome with a concentration of 20% and 40% had antibacterial activity with an inhibitory diameter of each of 6.641±0.182 mm and 9.967±0.396 mm respectively. The value of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined using the agar dilution method with a positive control group (media with Staphylococcus aureus bacteria), negative control (media), and a test group (extract at a concentration of 20%, 18%, 16%, 14%, 12%, and 10% w/v). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value set is at a concentration of 18%.

Keywords: *Black bangle rhizome, Staphylococcus aureus, inhibitory activity, Minimum Inhibitory Concentration (MIC).*

Abstrak. Infeksi merupakan salah satu penyakit dengan penderita terbanyak di negara maju maupun negara berkembang. Terjadinya infeksi dapat disebabkan karena adanya bakteri. Bangle hitam memiliki kandungan senyawa kimia dengan efek farmakologis yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui potensi rimpang bangle hitam (Zingiber ottensii (Val.)) sebagai antibakteri dan menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus. Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan tahapan kerja pengumpulan bahan, determinasi tanaman, pembuatan simplisia, standardisasi simplisia, skrining fitokimia simplisia dan ekstrak, ekstraksi, uji aktivitas antibakteri, serta penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar cara sumuran dengan kelompok kontrol positif (tetrasiklin), kontrol negatif (metanol), dan kelompok uji (ekstrak pada konsentrasi 40%, 20%, 10%, dan 5% b/v). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil yaitu ekstrak metanol rimpang bangle hitam dengan konsentrasi 20% dan 40% memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter hambat masing-masing sebesar 6,641±0,182 mm dan 9,967±0,396 mm. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan menggunakan metode dilusi agar dengan kelompok kontrol positif (media yang ditumbuhi bakteri Staphylococcus aureus), kontrol negatif (media), dan kelompok uji (ekstrak pada konsentrasi 20%, 18%, 16%, 14%, 12% dan 10% b/v). Nilai Konsentrasi Hambat Minimum yang ditetapkan ada pada konsentrasi 18%.

Kata Kunci: *Rimpang bangle hitam, Staphylococcus aureus, daya hambat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).*

Corresponding Author
Email: spfitrianingsih@gmail.com

A. Pendahuluan

Proses masuknya bakteri serta mikroba patogen ke dalam tubuh disebut sebagai infeksi. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh beberapa mikroba patogen seperti bakteri, jamur dan virus. Penyakit infeksi menjadi salah satu masalah yang dihadapi dari tahun ke tahun dan angka penderita infeksi terus meningkat seiring berjalannya waktu (1). Seperti yang terjadi pada infeksi dari bakteri *Staphylococcus aureus*, hampir seluruh manusia pernah mengalami infeksi bakteri ini selama hidupnya dengan tingkat keparahan yang berbeda-beda. Tingkat keparahan minor ditandai dengan infeksi di kulit seperti furunkulosis dan impetigo. Tingkatan selanjutnya terjadi infeksi traktur urinarius, infeksi traktus respiratorius, hingga mencapai infeksi mata dan *Central Nervous System* (CNS). Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit diare dan adanya kontaminasi enterotoksin dari bakteri tersebut mengakibatkan keracunan pada manusia. Tanda dari gejala keracunan diantaranya adalah mual, muntah-muntah, dan diare hebat yang tidak disertai demam (2).

Salah satu cara yang yang dapat dilakukan dalam menghambat atau membunuh bakteri dalam tubuh adalah dengan pemberian antibiotik, yaitu suatu senyawa organik yang memiliki sifat toksik terhadap mikroorganisme lain. Telah banyak beredar antibiotik yang memiliki beberapa efek terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* namun bakteri ini sulit untuk dimusnahkan karena mudah untuk mengembangkan resistensi terhadap antibiotik sehingga antibiotik tersebut tidak dapat bekerja secara maksimal (1). Adapun mekanisme kerja yang dilakukan bakteri *Staphylococcus aureus* ialah dengan mensintesis suatu enzim inaktivator yang nantinya akan menghancurkan antibiotik sehingga tidak akan memberikan efek terapi (3).

Dalam upaya mengatasi adanya peningkatan resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* diperlukan suatu inovasi supaya penyembuhan penyakit infeksi oleh bakteri tidak selalu menggunakan obat-obatan antibiotik. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan infeksi bakteri ini dapat ditanggulangi dengan menggunakan tanaman obat tradisional. Adapun tanaman obat tradisional yang memiliki potensi sebagai antibakteri alami merupakan bangle hitam (3). Bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) merupakan salah satu tanaman dari keluarga Zingiberaceae yang secara empiris dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat herbal untuk mengobati gatal, demam, memar, tukak lambung dan batuk (4). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sulaeman, *et al*. (5), metabolit sekunder yang terkandung dalam rimpang ini diantaranya adalah senyawa flavonoid, triterpenoid, saponin, dan tanin. Metabolit sekunder ini memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda dalam penghambatan pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut: “Apakah saja golongan senyawa kimia yang terkandung di dalam simplisia dan ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.))?”, “apakah ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) memiliki potensi sebagai antibakteri pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?”, dan “berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?” . Selanjutnya, tujuan dalam penelitian ini diuraikan dalam pokok-pokok sbb.

1. Untuk mengetahui golongan senyawa kimia dalam simplisia dan ekstrak dari rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)).
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)).
3. Untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan objek penelitiannya yaitu rimpang bangle hitam yang diperoleh dari tumbuhan bangle hitam yang berada di Desa Wanaraja, Kecamatan Wanasari, Kabupaten Garut. Dilakukan beberapa tahapan kerja seperti

pengumpulan bahan, determinasi simplisia, pengolahan pascapanen (sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, dan penyimpanan), standardisasi simplisia (dengan penetapan kadar air, kadar sari, kadar abu dan susut pengeringan), skrining fitokimia simplisia dan ekstrak (yang meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, tannin, fenol, dan kuinon), ekstraksi, uji aktivitas antibakteri, serta penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)). Bakteri yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus*. Terdapat 3 kelompok uji, diantaranya adalah kontrol positif (antibiotik tetrasiklin), kontrol negatif (metanol), dan larutan uji dengan pengenceran ekstrak (pada konsentrasi 40%, 20%, 10%, dan 5% b/v). Metode pengujian untuk mengetahui potensi antibakteri yang digunakan adalah metode difusi agar dengan cara sumuran dan parameter yang diamati adalah terbentuknya zona bening di sekitar lubang yang nantinya akan diukur menjadi nilai diameter zona hambat. Pengujian ini dilakukan sebanyak dua kali (duplo). Metode pengujian yang dilakukan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu metode dilusi dengan cara dilusi padat (*pour plate*) serta parameter yang diamati yaitu pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media agar setelah inkubasi selama 24 jam. Analisis data dilakukan dengan menentukan nilai rata–rata dan Standar Deviasi (SD) dari zona hambat yang terbentuk dan pengamatan untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Standardisasi Simplisia Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.))

Sampel yang digunakan dilakukan tahapan pascapanen untuk memperoleh simplisia yang berasal dari rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) melalui tahapan determinasi tanaman, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, dan penyimpanan. Simplisia dilakukan standardisasi simplisia untuk mengetahui bahwa simplisia yang digunakan merupakan simplisia yang baik dan terpenuhinya persyaratan dalam pengujian parameter spesifik dan non-spesifik. Berikut merupakan hasil pengukuran parameter standardisasi simplisia yang dijelaskan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Parameter Standardisasi Simplisia Rimpang Bangle Hitam

No.	**Parameter**	**Hasil Pengujian**	**Ketentuan untuk Rimpang Bangle** (6)
1	Kadar Air	9%	≤ 10%
2	Kadar Abu total	5,9009%	≤ 9%
3	Kadar Abu tidak larut asam	2,4048%	≤ 3,3%
4	Susut pengeringan	8,92%	≤ 10%
5	Kadar sari larut air	10,6482%	≥ 10,6%
6	Kadar sari larut etanol	12,11%	≥ 4,6%

Parameter kadar air ditetapkan untuk mengetahui kandungan air yang berada dalam simplisia. Hasil yang didapatkan yaitu sebesar 9% dan memenuhi persyaratan yang ditetapkan pada acuan (6). Nilai kadar air ditetapkan untuk mencegah terjadinya pertumbuhan mikroba seperti jamur, bakteri, kamir dan kapang. Selain itu untuk menjaga kualitas simplisia dan untuk mencegah terjadinya reaksi enzimatis (7).

Parameter kadar abu dilakukan untuk mengetahui komponen yang tidak mudah menguap dan tetap tinggal saat dilakukan pemijaran. Hasil yang didapatkan pada penetapan kadar abu total adalah sebesat 5,9009%. Menurut Febrianti, *et al*. (8), hasil ini menunjukan suatu simplisia mengandung oksida logam, logam yang terbakar dan mineral. Penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai kandungan mineral

dari faktor eksternal pada proses awal hingga terbentuk ekstrak. Hasil yang didapatkan pada penetapan ini adalah sebesar 2,4048% yang menggambarkan adanya kontaminasi yang bersumber dari faktor luar seperti pasir, debu, pengotor lain dan tanah yang melekat pada simplisia (8).

Tujuan dilakukannya penetapan parameter susut pengeringan yaitu untuk menentukan semua jenis bahan (air dan bahan volatil) yang mudah menguap dan hilang dengan adanya pemanasan. Hasil yang didapatkan pada penetapan parameter ini adalah sebesar 8,92% yang menunjukan bahwa dalam simplisia yang digunakan terdapat senyawa yang mudah menguap dan hilang saat pemanasan (7).

Parameter kadar sari dilakukan bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang mampu tertarik oleh pelarut. Keduanya memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda dan dapat menarik senyawa kimia dalam simplisia berdasarkan pada kelarutan senyawanya. Hasil kadar sari larut air adalah 10,6482% dan kadar sari larut etanol yaitu 12,11%. Hasil ini menggambarkan kandungan senyawa kimia yang terterik dalam masing-masing pelarut. Pelarut etanol mendapatkan hasil yang lebih besar karena etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa semi-polar dan non-polar (8).

Dalam penetapan parameter standardisasi, ada kaitannya antara penetapan kadar air dan susut pengeringan. Perbedaan penetapan ini yaitu pada penetapan kadar air, kandungan air yang terukur dalam simplisia sedangkan penetapan susut pengeringan kandungan air dan senyawa yang bersifat volatil yang terukur dalam simplisia tersebut. Pada penelitian ini, kandungan kadar air lebih besar dibandingkan denan susut pengeringan. Hal ini dapat terjadi karena bobot cawan kosong yang digunakan tidak konstan dan cawan yang terlalu lama disimpan dalam eksikator sehingga akan mempengaruhi bobot penimbangan.

Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Metanol Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.))

Proses selanjutnya adalah uji penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) yang dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan golongan senyawa kimia yang berada dalam sampel. Berikut merupakan hasil identifikasi golongan senyawa kimia yang terdapat dalam simplisia dan ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) yang disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia simplisia dan Ekstrak Metanol Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.))

No.	Golongan Senyawa	Hasil Identifikasi	
		Simplisia	Ekstrak
1.	Fenol	+	-
2.	Flavonoid	+	+
3.	Saponin	-	-
4.	Terpenoid dan Steroid	+	+
5.	Alkaloid	+	+
6.	Tanin	+	+
7.	Kuinon	+	+

Keterangan:

(+) = Terdeteksi (-) = Tidak Terdeteksi

Pemeriksaan alkaloid memiliki prinsip adanya reaksi pengendapan yang terjadi karena penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada senyawa golongan alkaloid akan mengganti ion ioda dalam pereaksi dragendroff dan pereaksi mayer. Hal ini lah yang mengakibatkan terbentuknya endapan jingga pada penambahan pereaksi dragendroff dan terbentuk endapan kuning pada penambahan pereaksi mayer (yang

mengandung kalium tettraiodomerkurat (II)) pada larutan uji (9). Hasil yang didapatkan adalah positif mengandung senyawa alkaloid ditandai dengan adanya endapan berwarna jingga-coklat saat larutan uji ditambahkan pereaksi dragendorf.

Prinsip pemeriksaan penentuan golongan senyawa kimia flavonoid adalah terjadinya reaksi pembentukan senyawa kuinoid yang berasal dari pereaksi NaOH menghasilkan warna kuning (10). Hasil yang didapatkan pada pemeriksaan senyawa flavonoid untuk simplisia dan ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) adalah positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna blanko menjadi kuning pada pengujian simplisia dan terbentuknya cincin merah bewarna gelap serta perubahan warna larutan menjadi warna kuning tua pada ekstrak metanol rimpang bangle hitam. Terbentuknya cincin berwarna merah memiliki kemungkinan golongan flavonoid yang terkandung didalamnya adalah senyawa flavanol, flavanonol, dan flavanon (11).

Prinsip dari pemeriksaan senyawa saponin dalam uji busa adalah dengan mengkocok sampel uji selama beberapa detik untuk melihat terbentuknya busa (12). Hasil yang didapatkan dari pengujian saponin adalah sampel uji tidak mengandung busa setelah dikocok selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit. Hal ini bisa saja terjadi karena senyawa kimia saponin tidak tertarik oleh pelarut metanol yang digunakan atau tidak terdapat senyawa saponin dalam simplisia maupun ekstrak rimpang bangle hitam.

Pada pemeriksaan triterpenoid dan steroid menggunakan pereaksi Liebermann-Bouchard yang akan membentuk senyawa kompleks dan mengubah warna sampel menjadi merah kecoklatan untuk senyawa steroid dan menjadi merah-ungu-coklat untuk senyawa triterpenoid (13). Hasil yang didapatkan baik untuk simplisia maupun ekstrak rimpang bangle hitam adalah positif mengandung triterpenoid dan steroid ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi jingga-coklat pada sampel simplisia dan sampel ekstrak metanol.

Pada pemeriksaan senyawa tanin, prinsip pemeriksaan senyawa ini adalah reaksi pengendapan protein dan akan terbentuk kopolimer yang tidak larut dalam air (14). Hasil yang didapatkan pada pengujian ini adalah positif mengandung tanin, terlihat dari bawah tabung reaksi terdapat endapan putih dengan perubahan warna pada sampel uji menjadi kuning.

Prinsip pengujian dalam pemeriksaan senyawa fenol adalah adanya pembentukan senyawa kompleks yang menghasilkan warna. Reaksi antara gugus (-OH) aromatis yang dimiliki oleh senyawa fenol dengan $FeCl_3$ membentuk kompleks senyawa yang diduga besi (III) heksafenolat yang membentuk warna hujau, biru, merah, ungu atau hitam pekat (15). Hasil yang didapatkan untuk simplisia rimpang bangle hitam terjadi perubahan warna pada sampel menjadi hijau, tandanya bahwa terdeteksi senyawa fenol. Namun pada ekstrak metanol rimpang bangle hitam tidak terjadi perubahan warrna pada sampel, artinya setelah dilakukan ekstraksi senyawa fenol tidak tertarik oleh pelarut sehingga tidak terdeteksi.

Dalam pemeriksaan senyawa kuinon, prinsip pemeriksaanna adalah dengan mendeprotonasi gugus fenol pada senyawa kuinon sehingga terbentuk ion fenolat yang akan menyerap cahaya tertentu sehingga menghasilkan perubahan warna pada larutan uji menjadi warna merah (16). Hasil yang didapatkan adalah terdapar perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi warna merah dan terdapat endapan berwarna merah. Artinya bahwa simplisia dan ekstrak rimpang bangle hitam positif mengandung senyawa kuinon.

Ekstraksi Simplisia Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.))

Simplisia rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi selama 3 hari dengan pelarut metanol pada perbandingan (1:10). Metode ini dipilih karena menghindari rusaknya senyawa kimia akibat pemanasan, metodenya sederhana, praktis dan tidak memerlukan banyak peralatan. Ekstrak yang dihasilkan dari 600 gram simplisia adalah 64,1201 gram dan rendemen yang diperoleh yaitu 10,6867%. Nilai rendemen menunjukan proses ekstraksi sudah efektif atau tidak, hal yang berpengaruh adalah pelarut yang digunakan, lamanya proses ekstraksi, kontak antara luas permukaan simplisia dan kejenuhan pelarut.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) Metode Difusi Agar Cara Sumuran

Uji aktivitas antibakteri adalah suatu metode yang digunakan untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri. Tujuan dilakukannya pengujian ini adalah untuk mengetahui potensi bahan yang diuji sebagai kandidat antibakteri dan menentukan kekuatan bakteri terhadap senyawa atau obat antimikroba yang memiliki aktivitas antibakteri. Metode difusi sumuran dipilih karena memiliki keuntungan, diantaranya adalah cara pengujiannya sederhana, pengerjaannya mudah dan relatif lebih murah. Kelebihan lain dari metode ini adalah lebih mudah untuk mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas dari permukaan hingga ke dasar sumuran. Disisi lain, cara ini memiliki kekurangan yaitu volume yang digunakan terhadap larutan uji, suspensi bakteri, dan media pertumbuhan yang digunakan harus tepat. Selain itu, volume mikropipet yang digunakan harus sesuai dengan pengujian. Kekurangan lain dari metode ini yang bersifat krusial yaitu biasanya pada proses pembuatan sumuran terdapat sisa agar pada suatu media yang digunakan untuk membuat sumuran, media agar pecah atau retak saat pembuatan sumuran. Hal ini akan mempengaruhi proses difusi sampel uji ke dalam media yang akan mempengaruhi terbentuknya diameter zona hambat saat melakukan pengujian (17). Hasil pengujian yang didapatkan adalah sebagai berikut disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak Metanol Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.))

Konsentrasi Uji (%)	Diameter Zona Hambat (mm)
40%	9,967±0,396
20%	6,641±0,182
10%	-
5%	-
K- (metanol)	-
K+ (Tetrasiklin 1% b/v)	23,926±0,656

Pada penelitian ini, hasil yang didapatkan bahwa ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dilihat dari diameter zona bening yang terbentuk. Diameter zona bening menandakan bahwa ada penghambatan pertumbuhan bakteri di sekitar lubang akibat adanya suatu zat yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri tersebut. Artinya, ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) bersifat bakteriostatik. Bakteriostatik adalah salah satu sifat antibiotik yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri bersifat sementara (*reversible*). Senyawa bakterostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom (18). Berikut merupakan kriteria kekuatan daya antibakteri menurut Davis & Scout (19) pada Tabel 4.

Tabel 4. Kriteria Daya Antibakteri

Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Antibakteri
≤ 5	Lemah
5 – 10	Sedang
10 – 20	Kuat
> 20	Sangat kuat

Pada hasil penelitian yang telah dilampirkan, diameter zona bening mulai terbentuk pada konsentrasi 20% dengan diameter zona hambatnya adalah sebesar 6,641 mm. Menurut Davis & Stout (19), hasil yang didapatkan termasuk ke dalam kategori sedang. Pada penelitian

yang dilakukan oleh Dewi & Setiawan (20), ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 32% dengan rata-rata diameter zona hambatnya adalah 6,8 mm. Berbeda hal nya dengan penelitian yang dilakukan oleh Citradewi, *et al.* (3), ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) bahwa dalam konsentrasi 25% ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona hambat yang terbentuk adalah 14,250 ± 0,479 mm. Pada ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) yang digunakan, pada konsentrasi 20% sudah dapat menghasilkan diameter zona hambat. Artinya bahwa ekstrak metanol rimpang bangle hitam lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan ekstrak etanol rimpang bangle. Pada konsentrasi 40%, nilai diameter zona hambatnya semakin bertambah yaitu 9,967±0,396 mm. Menurut Davis & Stout (19), nilai zona hambat yang terbentuk termasuk ke dalam kategori sedang menuju kuat. Hal ini menunjukan bahwa semakin tingginya konsentrasi maka akan semakin luas dan tinggi juga diameter zona hambat yang terbentuk. Selain itu, tingginya konsentrasi juga berpengaruh pada kecepatan difusi karena proses difusi bergerak dari konsentrasi yang tinggi ke konsentrasi yang rendah. Viskositas atau kekentalan juga berpengaruh pada proses difusi, dimana kekentalan yang tinggi akan memperlambat proses difusi. Seperti hal nya pada kekentalan ekstrak yang ditetapkan sebagai konsentrasi ekstrak, konsentrasi ekstrak yang tinggi mengandung ekstrak (20).

Terbentuknya diameter zona hambat juga tidak terlepas dari peranan senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.). Ditemukannya golongan senyawa kimia flavonoid, alkaloid, kuinon, steroid, terpenoid, dan tanin menunjukan bahwa golongan senyawa tersebut yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda. Menurut Heni, *et al.* (21), golongan senyawa alkaloid mempunyai kemampuan untuk menghambat bakteri dengan mekanisme penghambatan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga sel tersebut mati, menghambat pembentukan sintesis protein sehingga akan mengganggu metabolisme bakteri, dan menghambat enzim topoidomerase sel bakteri dan bertindak sebagai interkelator DNA. Senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks bersama protein ekstraseluler sehingga membran sel bakteri rusak (3), melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri sehingga akan menghambat motilitas bakteri, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat metabolisme energi dalam bakteri (22). Mekanisme kerja golongan senyawa triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (suatu protein trans membran) yang akan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga struktur porin akan rusak dan membran luar dinding sel juga rusak, kebocoran sel pada liposom bakteri, dan berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga sel lisis (23). Senyawa tanin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja mempresipitasi protein, menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk, menghambat pembentukan polipeptida dinding sel sehingga pembentukannya menjadi kurang sempurna, menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan fisik maupun osmotik dan akan mengalami kematian dan mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (24). Mekanisme kerja yang dimiliki senyawa kuinon sebagai antibakteri adalah dengan membentuk senyawa kompleks yang bersifat *irreversible* dengan residu asam amino nukleofilik terhadap protein transmembran yang terdapat pada membran plasma, polipeptida dinding sel, dan enzim-enzim yang terdapat pada permukaan membran sel (22).

Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Dengan Metode Dilusi Padat

Nilai konsentrasi yang menghasilkan diameter zona hambat pada pengujian ini dapat digunakan sebagai parameter dalam penentuan konsentrasi pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Sebaiknya untuk mengetahui konsentrasi efektif dari suatu zat antimikroba perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi, sehingga didapatkan konsentrasi hambat minimum dari ekstrak tersebut (25). Dalam penentuan nilai Konsentrasi

Hambat Minimum (KHM), parameter yang diamati adalah pertumbuhan koloni yang berada dalam cawan petri. Menurut Widiana (26), nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat ditetapkan apabila jumlah koloni bakteri < 10 koloni dalam cawan petri, sedangkan apabila > 10 koloni bakteri dalam cawan petri tidak dapat ditetapkan sebagai nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Berikut merupakan hasil penelitian pada penentuan nilai KHM untuk ekstrak metanol rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) dilampirkan pada Tabel 5.

Tabel 4. Hasil Pengujian Konsetrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Metanol Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.))

No.	Konsentrasi Uji (%)	Pertumbuhan koloni
1.	20%	-
2.	18%	+
3.	16%	+
4.	14%	++
5.	12%	+++
6.	10%	+++

Keterangan:

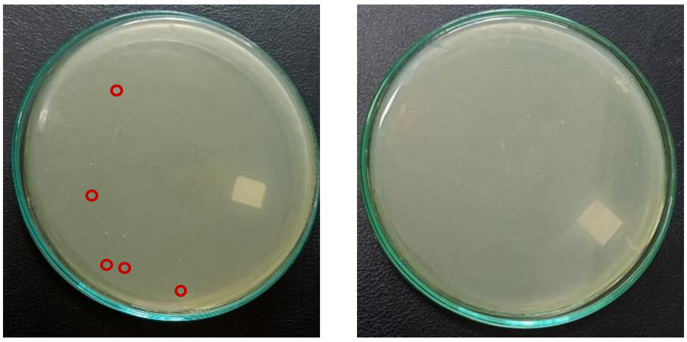
(+++) = Jumlah koloni bakteri sangat banyak

(++) = Jumlah koloni bakteri banyak

(+) = Jumlah koloni bakteri sedikit (< 10 koloni)

(-) = Tidak terdapat koloni bakteri

Pada konsentrasi 10%, jumlah koloni yang terlihat pada cawan petri tersebar secara merata di seluruh media cawan petri. Pada pengujian aktivitas antibakteri difusi agar cara sumuran, diameter hambat yang terbentuk pada konsentrasi ini menunjukan nilai yang rendah. Hal ini menandakan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 12%, jumlah koloni yang terbentuk tersebar secara merata pada media yang berada dalam cawan petri. Namun, terdapat zona bening di tengah media yang menandakan bahwa ekstrak sudah mulai menghambat pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi 14% terjadi perubahan pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* di media yang berada dalam cawan petri. Terlihat bahwa zona bening semakin banyak dibandingkan dengan pada konsentrasi sebelumnya, namun masih terdapat banyak penyebaran koloni pada daerah tertentu. Pada konsentrasi 16%, pembentukan koloni menurun drastis dan koloni tersebar hanya pada daerah daerah tertentu saja dan terdapat koloni yang tumbuh banyak dalam satu daerah tertentu. Pada konsentrasi 18%, jumlah koloni berkurang dari sebelumnya dan koloni yang terbentuk tidak bergerombol dalam suatu daerah. Jumlah koloni pada konsentrasi ini adalah sebesar 5 koloni sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi ini merupakan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Hal ini sesuai dengan ketentuan yang ditetapkan oleh Widiana (26), bahwa nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat ditetapkan apabila jumlah koloni bakteri < 10 koloni. Pada konsentrasi 20%, tidak terlihat jelas pertumbuhan koloni bakteri dalam media yang berada pada cawan petri. Dari penelitian ini, dapat dikatakan bahwa semakin tingginya konsentrasi sampel uji yang digunakan maka akan semakin menurunnya jumlah koloni bakteri yang terbentuk pada media yang berada dalam cawan petri. Berikut merupakan hasil pengujian KHM pada konsentrasi 18% dan 20% dilampirkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengujian Penentuan Nilai KHM Pada Konsentrasi 18% dan Konsentrasi 20%

D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dalam penelitian ini, peneliti menyimpulkan beberapa hasil penelitian sebagai berikut:

1. Golongan senyawa kimia yang teridentifikasi dalam simplisia rimpang bangle hitam (Zingiber ottensii (Val.)) adalah fenol, flavonoid, terpenoid, steroid, alkaloid, tanin dan kuinon dan dalam ekstrak rimpang bangle hitam (Zingiber ottensii (Val.)) yaitu flavonoid, terpenoid, steroid, alkaloid, tanin dan kuinon.
2. Ekstrak metanol rimpang bangle hitam (Zingiber ottensii Val.) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Staphylococcus aureus dengan diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20% adalah 6,641±0,182 mm dan pada konsentrasi 40% adalah 9,967±0,396 mm.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol rimpang bangle hitam (Zingiber ottensii (Val.)) dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus adalah pada konsentrasi 18%.

Acknowledge

Terima kasih kepada Bapak Abdul Kudus, M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas MIPA UNISBA, Ibu apt. Sani Ega Priani, M.Si. selaku ketua Prodi Farmasi UNISBA, Ibu Dr. apt. Dina Mulyanti, M. Si. sebagai dosen wali, Ibu apt. Sri Peni Fitrianingsih, M.Si. dan Ibu Siti Hazar, M.Si. selaku dosen pembimbing utama dan serta, kepada kedua orang tua, serta teman-teman yang sudah mendukung dalam menyelesaikan penelitian ini.

Daftar Pustaka

[1] Jawetz, Melnick &Adelberg's. *Medical Microbiology*. *28th Edition*. New York: McGraw-Hill; 2019.

[2] Buldani, A., Yulianti, R. & Soedomo, P., Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae* Dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro Dengan Metode Difusi Cakram. *2nd Seminar Nasional IPTEK Terapan (SENIT),* 15-17.pp. 229-238; 2017.

[3] Citradewi, A., Sumaryana, I. & Juliasih, N. Daya Hambat Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber purpereum* Roxb.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Widya Biologi*, 1(1), pp. 45-53; 2019.

[4] Maharani, S.A. *Review Artikel: Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Profil Metabolit Sekunder Bangle Hantu (Zingeber ottensii* Val.*)* [Publikasi Ilmiah], Jurusan Farmasi, Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2021.

[5] Sulaeman, A., Patonah, Negara, G.G., Black Bangle (*Zingiber ottensii* Val.) Rhizome and Katuk Leaves (*Sauropus androgynus* L. Merr) Extraxt Combination Protective Role on Adipose Tissues Histologic Profile of High-Fat and Carbohydrate Diet-Induces Obses Male Rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Vol. 11 (1), 225-228; 2018.

[6] Depkes R.I. *Farmakope Herbal Indonesia II.* Jakarta: Direktorat Jendral Pengelolaan

Obat dan Makanan; 2017.
[7] Maulana, I. *Teknologi dan Pengembangan Bahan Alam.* Bandung: Sadari Press; 2021.
[8] Febrianti, D.R., Mahrita, M., Ariani, N., Putra, A.M.P., Noorcahyati, N. Uji Kadar Sari Larut Air dan Kadar Sari Larut Etanol Daun Kumpai Mahung (*Euphatorium inulifolium* H.B.&K). *Jurnal Pharmascience*, Vol. 6 (2), 19-24; 2019
[9] Puspitasari, L., Swastini, D., & Arisanti, C. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 1-5; 2013.
[10] Mulyani, S., & Laksana, T. Analisis Flavonoid dan Tanin dengan Metoda Mikroskopi-Mikrokimiawi. *Majalah Obat Tradisional*. Vol. 16 (3), 109-114; 2011.
[11] Noer, S., Pratiwi, R. & Gresinta, E. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin, Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 8(1), 19-29; 2018.
[12] Astarina, N., Astuti, K. & Warditiani, N. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 1-7; 2013.
[13] Habibi, A., Firmansyah, R. & Setyawati, S. Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzigium polyanthum*). *Indnesian Journal of Chemical Science,* 6(2), 1-4; 2018.
[14] Desinta, T. Penentuan Jenis Tanin Secara Kualitatif Dan Penetapan Kadar Tanin Dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Secara Permanganometri. *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya,* 4(1), 1-10; 2015.
[15] Haryati, N. & Erwin, C. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (*Syzygium mytifolium* Walp) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Kimia Mulawarman,* 13(1), 35-39; 2015.
[16] Harborne, J. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Bandung: Institut Teknologi Bandung Press; 1996.
[17] Nurhayati, L., Yahdiani, N. & Hidayatulloh, A. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan,* 1(2), 41-46; 2020.
[18] Goering, R. *et al*. *Mims' Medical Microbiology.* 5th New York: Elsevier Ltd; 2013.
[19] Davis, W. & Stout, T. Disc Plate Method of Microbial Antibiotic Assay. *Applied and Enviromental Microbiology,* 22(4), 666-670; 2009.
[20] Dewi, P. & Setiawan. Rhizome Bangle Extract Inhibition Growth Test Against *Staphylococcus aureus* For Oral Abcess Herbal Treatment. *Journal of Health and Dental,* 1(3), 225-232; 2021.
[21] Heni, Arreneuz, S. & Zaharah, T. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKK MIPA,* 4(1), 84-90; 2015.
[22] Sapara, T., Waworuntu, O. & Juliatri. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*, 5(4), 10-17; 2016.
[23] Rini, A., Supriatno & Rahmatan, H. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) Dari Daerah Kabupaten Aceh Besar Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah,* 2(1); 2017.
[24] Ngajow, M., Abidjulu, J. & Kamu, V. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Barang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT,* 5(2), 128-132; 2013.
[25] Trisia, A., Philyria, R. & Toemon, A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136-143; 2018.
[26] Widiana, R. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Teh (*Camellia sinensis* L.) Pada *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp.. *Jurnal Pelangi,* 4(2), 109-117; 2012.
[27] Nuraeni, Anisa Dwi, Kodir Reza Abdul. (2021). U*ji Aktivitas Antibakteri*

Propionibacterium acnes Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Karuk (Piper sarmetosum Roxb. Ex. Hunter) serta Analisis KLT Bioautografi. Jurnal Riset Farmasi. 1(1). 9-15.