

# Aktivitas Antimikroba Ekstrak Jahe Kering Beku Terhadap Beberapa Bakteri Patogen

## *Antimicrobial Activity of Freeze Dried Ginger Extract Against Several Pathogen*

Siti Nurjanah<sup>1,2)\*</sup> dan Sarah Fathia<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>2)</sup> South East Asian Food and Agricultural Science and Technology Center, Institut Pertanian Bogor, Bogor

**Abstract.** *Ginger (Zingiber officinale Roscoe) has a potential as antimicrobial agent by inhibit or kill microbes. Freeze dried ginger extract is prepared for applying into food matrix easily. The objectives of this study was to evaluate the antimicrobial activity of freeze dried ginger extracts by multistage maceration using hexane, ethyl acetate and etanol against foodborne pathogen Staphylococcus aureus, Bacillus cereus and Salmonella enterica serovar Typhimurium. Ginger extracts were prepared by multistage maceration method using with different polarity of solvents i.e. hexane, ethyl acetate and etanol then freezed dried. Antimicrobial activity of the ginger extract were assayed by agar well diffusion method with Diameter Inhibition Zone (DIZ) and dillution broth method. The yield of hexane, ethyl acetate and etanol ginger extracts from multistage maceration were respectively 3.57; 3.17; 3.02 g/100 g dry ginger. The DIZ value of hexane, ethyl acetate and etanol ginger extracts for Staphylococcus aureus were 5.0, 5.7, 1.3 mm respectively and 6.1, 6.6, 6.0 mm for Bacillus cereus, however there was no inhibitory zone for Salmonella Typhimurium. The ethyl acetate ginger extract showed highest inhibition zone. The ethyl acetate ginger extract can reduced the growth of B. cereus and S. aureus as much as 85 and 47% from the normal growth level, however required higher concentration for reach 90% reduction.*

**Keywords:** antimicrobial activity, *Bacillus cereus*, *enterica serovar Typhimurium*, ginger extract, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*

**Abstrak.** Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) memiliki potensi sebagai agen antimikroba. Ekstrak jahe kering beku dibuat agar mudah diaplikasikan pada pangan. Tujuan dari penelitian ini untuk menguji aktivitas antimikroba dari ekstrak jahe dengan maserasi bertingkat dan kering beku terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella enterica serovar Typhimurium*. Ekstrak jahe kering beku disiapkan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut dengan pelarut polaritas berbeda (heksana, etil asetat, dan etanol), kemudian dikeringbekukan. Aktivitas antimikroba ekstrak jahe diuji dengan metode difusi agar dengan *Diameter Inhibition Zone* (DIZ) dan metode *dillution broth*. Rendemen ekstrak jahe dengan heksana, etil asetat, dan etanol dari maserasi bertingkat masing-masing 3.57, 3.17, 3.02 g/100 g jahe kering. Ekstrak heksana, etil asetat, dan etanol mampu menghambat Gram positif *S. aureus* sebesar 5.0, 5.7, 1.3 mm dan *B. cereus* sebesar 6.1, 6.6, 6.0 mm, tetapi tidak menunjukkan zona penghambatan pada Gram negatif *S. Typhimurium*. Aktivitas penghambatan untuk ekstrak jahe etil asetat menunjukkan zona penghambatan paling tinggi. Ekstrak etil asetat yang diuji pada konsentrasi sampai 20 mg/mL menurunkan *B. cereus* dan *S. aureus* sebanyak 85 dan 47% dari jumlah pertumbuhan normal, namun masih perlu penggunaan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menurunkan jumlah bakteri sebanyak 90%.

**Kata Kunci:** aktivitas antimikroba, *Bacillus cereus*, ekstrak jahe, *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*

**Aplikasi Praktis.** Hasil penelitian memberikan informasi aktivitas antimikroba yang dimiliki senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak jahe menggunakan beberapa pelarut yaitu heksan, etil asetat, dan etanol terhadap beberapa jenis bakteri. Data-data di dalam hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan masukan bagi pihak yang akan mengembangkan jahe sebagai salah satu bahan antimikroba alami.

## PENDAHULUAN

Penanganan yang kurang higienis pada saat produksi dapat menimbulkan kontaminasi bakteri patogen dalam produk makanan sehingga menyebabkan keracunan pangan (Todd *et al.* 2009). Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan keracunan yaitu *Staphylococcus aureus* (*S.*

*aureus*), *Salmonella enterica serovar Typhimurium* (*S. Typhimurium*), dan *Bacillus cereus* (*B. cereus*). Keberadaan pengawet pangan alami sangat diharapkan dapat mempertahankan mutu pangan. Pengawet pangan bertujuan untuk menghambat pembusukan dan menjamin mutu awal pangan agar sifat fisik dan kimia pangan dapat dipertahankan selama penyimpanan.

Korespondensi: siti.nrh@gmail.com

Jahe (*Zingiber officinale* var Roscoe) termasuk salah satu komoditas rempah yang penting di Indonesia. Berdasarkan data statistika, produksi jahe Indonesia pada tahun 2009 mencapai lebih dari 154 ton dan diperkirakan akan terus mengalami peningkatan di tahun mendatang. Saat ini luas penanaman rimpang jahe di Indonesia mencapai lebih dari 60 juta m<sup>2</sup> (BPS 2010) yang tersebar di seluruh wilayah Indonesia dengan daerah utama penghasil jahe yaitu Jawa Tengah dan Jawa Timur.

Penelitian pemanfaatan ekstrak jahe sebagai bahan antimikroba telah dilakukan di luar negeri (Singh *et al.* 2008). Di Indonesia, penelitian aktivitas antimikroba dari jahe sudah banyak dilakukan, diantaranya oleh Rahminiwati *et al.* (2010) dan Sari *et al.* (2013). Selain sebagai antimikroba, penelitian jahe telah dilaporkan memiliki banyak khasiat terhadap kesehatan manusia diantaranya dapat berperan sebagai antikanker (Akimoto *et al.* 2015), antiinflamasi (Jolad *et al.* 2004) dan antioksidan (Chan *et al.* 2008). Sari jahe telah diketahui dapat menghambat bakteri penyebab infeksi makanan yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella Thompson*, dan *Vibrio cholerae* (Sari *et al.* 2013). Diketahui pula bahwa perlakuan sterilisasi dengan otoklaf tidak merusak aktivitas antimikroba dalam sari jahe dan penghambatan akan semakin meningkat dengan semakin meningkatnya konsentrasi sari jahe yang ditambahkan.

Jahe termasuk dalam jenis sumber antimikroba alami yang dinyatakan layak untuk dijadikan pengawet pangan karena memiliki efektivitas dalam menghambat beberapa bakteri dan memiliki ketersediaan yang tinggi. Kandungan kimia yang terdapat dalam jahe antara lain seskuiterpen, zingiberen, zingeron, oleoresin, kamfena, limonen, borneol, sineol, sitral, zingiberal, dan felandren. Selain itu jahe juga mengandung pati, damar, asam-asam organik seperti asam malat dan asam oksalat, vitamin A, B, dan C, serta senyawa-senyawa flavonoid dan polifenol (Chrubasik 2005). Senyawa antimikroba memiliki mekanisme penghambatan yang berbeda-beda. Mekanisme kerja senyawa antimikroba yaitu dapat berupa merusak dinding sel hingga terjadi lisis, mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga sel bocor, menyebabkan denaturasi protein sel, menghambat kerja enzim dalam sel, merusak molekul protein dan asam nukleat dan menghambat sintesis asam nukleat (Prescott *et al.* 2005).

Komponen bioaktif pada tanaman dapat diekstrak dengan beragam cara diantaranya menggunakan metode *Soxhlet* (Mishra dan Behal 2010), hidrodistilasi (Singh *et al.* 2008), maserasi (Trusheva *et al.* 2007), dan *supercritical CO<sub>2</sub>* (Puengphian dan Sirichote 2008). Penelitian ini menggunakan maserasi bertingkat dengan pertimbangan penggunaannya yang sederhana, relatif murah dan mudah. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk jahe dalam pelarut. Prinsip metode maserasi yaitu terjadinya peristiwa *leaching* pada komponen aktif dalam bahan yang memiliki sifat kelarutan yang sama dengan pelarut yang digunakan (Singh 2008). Maserasi bertingkat merupakan metode ekstraksi bertahap dengan menggunakan pelarut yang berbeda. Metode maserasi bertingkat lebih banyak digunakan dalam mengekstraksi

senyawa antimikroba karena dalam prosesnya akan didapatkan lebih dari satu jenis senyawa antimikroba tergantung jenis pelarut yang digunakan. Ekstrak jahe akan lebih mudah diaplikasikan jika dalam bentuk bubuk atau awetan kering. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antimikroba dari ekstrak jahe dalam bentuk kering beku hasil maserasi bertingkat dan proses *freeze drying* terhadap bakteri patogen *S. aureus*, *B. cereus*, dan *S. Typhimurium*.

## BAHAN DAN METODE

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang jahe gajah. Bahan kimia yang digunakan meliputi pelarut heksan, etil asetat, dan etanol untuk proses ekstraksi, serta beberapa bahan lain KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, DMSO, dan kloramfenikol. Kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *B. cereus* (ATCC 13061), *S. Typhimurium* (ATCC 14028), dan *S. aureus* (ATCC 25923).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu oven pengering, timbangan analitik, *shaker* (Innova 2300 new brunswick scientific), *rotavapor* (BUCHI R210), filter vakum (BUCHI B169 *vacuum system*), *freeze dryer*, *autoklaf*, mikroskop, *hot plate*, inkubator suhu 37°C.

Tahap penelitian terdiri dari 1) persiapan kultur bakteri uji, 2) persiapan serbuk jahe kering, 3) ekstraksi dengan maserasi bertingkat menggunakan pelarut heksan, etil asetat, dan etanol, 4) pengujian aktivitas antimikroba dengan metode difusi sumur, 5) pengujian aktivitas penghambatan dengan metode *dillution broth*.

### Persiapan kultur bakteri uji

Persiapan kultur bakteri uji terlebih dahulu dilakukan pewarnaan Gram sederhana untuk mengetahui keseragaman kultur bakteri uji dan perhitungan total kultur bakteri uji menggunakan metode *Aerobic Plate Count* (APC) untuk mengetahui jumlah total bakteri awal sehingga dapat dihitung pengenceran yang diperlukan agar kultur yang digunakan pada saat pengujian berkisar 10<sup>5</sup> CFU/mL dengan menggunakan media NA. Pewarnaan Gram digunakan untuk identifikasi anggota dari domain bakteri ke dalam dua kelompok berdasarkan perbedaan dinding selnya. Tahap pewarnaan Gram sederhana dilakukan di atas preparat kaca, yaitu kultur disebar membentuk lapisan tipis di atas preparat kaca, dikering-udarkan, dilewatkan di atas api untuk fiksasi, diwarnai dengan pewarnaan Gram, dicuci dan dikeringkan. Selanjutnya morfologi sel bakteri uji dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Tahap persiapan kultur bakteri uji yaitu sebanyak 1 ose bakteri uji ditumbuhkan dalam media NB 10 mL dan diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Kultur bakteri ini digunakan sebagai kultur kerja pada setiap pengujian. Suspensi bakteri ditumbuhkan dengan menggunakan media NA pada seri pengenceran 10<sup>4</sup>–10<sup>8</sup> dan diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Koloni bakteri dengan jumlah

25–250 yang tumbuh dihitung berdasarkan metode *Aerobic Plate Count* (APC) (BAM 2001).

### Persiapan serbuk jahe kering

Persiapan rimpang jahe kering yaitu rimpang jahe segar dicuci hingga bersih dan ditiriskan, diiris tipis dengan *slicer* ketebalan 1.5 mm, dikeringkan dengan oven pengering suhu 55°C selama 5 jam sampai kering, selanjutnya dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ukuran 20 mesh hingga didapatkan serbuk halus. Rendemen serbuk jahe kering dihitung berdasarkan pada persentase antara bobot serbuk jahe yang didapatkan dengan bobot rimpang jahe awal yang digunakan.

### Ekstraksi jahe dengan maserasi bertingkat

Tahap ekstraksi mengacu pada metode Parhusip (2006) dengan modifikasi pada suhu pemekatan yaitu serbuk jahe sebanyak 100 g diekstrak dengan maserasi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut yaitu heksan, etil asetat, dan etanol. Serbuk jahe diekstrak dua kali masing-masing dengan heksan 400 mL, selanjutnya residu diekstrak dua kali masing-masing dengan etil asetat 400 mL, dan selanjutnya residu kedua diekstrak dua kali masing-masing dengan etanol 400 mL. Ekstraksi dilakukan pada suhu ruang dengan kecepatan rotasi 150 rpm selama 24 jam setiap tingkat. Tiap filtrat dipisahkan dari pelarut dengan penguapan dalam *rotavapor*. Pelarut pertama dan kedua diuapkan pada suhu 50°C dan pelarut ketiga diuapkan pada suhu 70°C. Sisa pelarut dihilangkan dengan gas nitrogen. Rendemen ekstrak jahe yang didapatkan dihitung sebagai persentase ekstrak (mg ekstrak jahe setelah *rotavapor*/100 g serbuk jahe kering). Ekstrak jahe kemudian dikeringkan dengan *freeze drier* untuk menghilangkan kadar air dalam ekstrak.

### Pengujian aktivitas antimikroba dengan metode difusi sumur

Pengujian aktivitas antimikroba mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Shan *et al.* (2007). Tujuan tahap ini adalah untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari ekstrak heksan, etil asetat, dan etanol terhadap *B. cereus*, *S. aureus*, dan *S. Typhimurium*. Masing-masing ekstrak jahe dilarutkan dalam DMSO. Media pertumbuhan yang digunakan yaitu media NA. Sebanyak 20 mL agar diinokulasikan dengan kultur bakteri yang mengandung bakteri uji sebanyak  $10^5$  CFU/mL. Selanjutnya dibuat 5 sumur pada media agar tersebut dengan diameter sumur 5 mm ketebalan 4 mm secara aseptis menggunakan alat pelubang agar steril. Kemudian setiap sumur dimasukkan 60 µL larutan ekstrak jahe konsentrasi 100 mg/mL, kontrol positif (kloramfenikol 100 µg/mL air steril) dan kontrol negatif (DMSO). Setelah ditetesi dengan ekstrak jahe, cawan diinkubasi dengan posisi tidak dibalik pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas penghambatan dihitung berdasarkan diameter penghambatan terhadap bakteri uji yang membentuk zona bening dan diukur menggunakan jangka sorong dengan

ketelitian 0.05 mm. Tahap ini dilakukan secara duplo dengan tiga kali ulangan. Zona penghambatan ( $d=2r$ ) yang diukur adalah diameter zona bening dikurangi dengan diameter sumur. Semakin lebar diameter penghambatan, maka aktivitas senyawa antimikroba semakin besar. Ekstrak yang menunjukkan aktivitas penghambatan terkuat akan dipilih untuk tahap penelitian selanjutnya.

### Pengujian aktivitas penghambatan dengan metode *dilution broth*

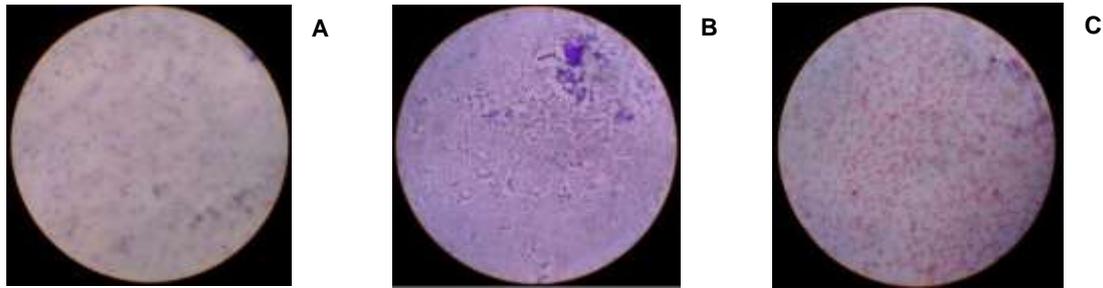
Pengujian aktivitas penghambatan mengacu pada Radiati (2002) dengan metode *dilution broth* menggunakan media NB. Pengujian aktivitas penghambatan dilakukan pada ekstrak jahe yang memiliki aktivitas antimikroba tertinggi terhadap bakteri uji. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 0, 5, 10, 15, 20 mg/mL untuk bakteri uji yang menunjukkan penghambatan pada difusi sumur. Tahap pengujian aktivitas penghambatan yaitu ekstrak jahe terpilih dibuat larutan stok sebesar 40% (mg ekstrak/mL DMSO) ditambah ke dalam tabung berisi inokulum bakteri uji yang mengandung campuran antara media NB. Selanjutnya kultur diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Subkultur ditumbuhkan pada media NA pada inkubasi 0 jam dan setelah inkubasi 24 jam dengan kisaran pengenceran antara  $10^{-3}$ – $10^{-8}$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persiapan kultur bakteri uji

Persiapan kultur bakteri uji bertujuan menjamin keseragaman kultur yang digunakan selama uji. Kultur bakteri uji terlebih dahulu dilakukan uji konfirmasi sederhana menggunakan pewarnaan Gram untuk mengetahui bakteri uji tidak terkontaminasi bakteri lain. *S. aureus* ditandai dengan morfologi bakteri yang terlihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x berwarna biru dan berbentuk kokus (Gambar 1a). Jumlah awal bakteri *S. aureus* pada penelitian ini sebesar  $5.2 \times 10^8$  CFU/mL. *B. cereus* ditandai dengan bentuk morfologi bakteri yang terlihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x berwarna biru dan berbentuk basil (Gambar 1b).

Jumlah awal bakteri *B. cereus* pada penelitian ini sebesar  $7.4 \times 10^6$  CFU/mL. *S. Typhimurium* ditandai dengan morfologi bakteri yang terlihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x berwarna merah dan berbentuk basil (Gambar 1c). Jumlah awal bakteri *S. Typhimurium* pada penelitian ini sebesar  $6.2 \times 10^8$  CFU/mL. Jumlah awal kultur bakteri ini digunakan untuk menstandarkan jumlah bakteri pada saat pengujian sehingga dapat terukur secara proporsional. Jumlah bakteri berkisar  $10^5$  direkomendasikan dalam pengujian aktivitas antimikroba (CDRH 2009).



**Gambar 1.** Bentuk morfologi bakteri dengan pewarnaan Gram perbesaran 1000x (A) *S. aureus* (B) *B. cereus* (C) *S. Typhimurium*

**Ekstraksi maserasi bertingkat dengan pelarut heksan, etil asetat, dan etanol**

Rendemen serbuk jahe gajah kering yang diperoleh dalam sebesar 9.98% (w/w), disimpan dalam lemari pendingin sebelum dilakukan tahap ekstraksi. Ekstraksi yang dilakukan dengan maserasi bertingkat diperoleh beberapa jenis ekstrak yaitu ekstrak heksan jahe, ekstrak etil asetat jahe dan ekstrak etanol jahe. Masing-masing jenis ekstrak yang diperoleh dihitung rendemennya berdasarkan persentase bobot ekstrak jahe setelah dipekatkan dengan *rotavapor* dibandingkan dengan bobot serbuk jahe kering (100 g).

Ekstraksi yang diperoleh dari maserasi bertingkat dengan pelarut heksan menghasilkan rendemen ekstrak yang paling besar yaitu 3.57% (w/w) kemudian ekstraksi dengan pelarut etil asetat yaitu 3.17% (w/w) dan rendemen yang terkecil yaitu ekstraksi dengan etanol yaitu 3.02% (w/w) (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan kandungan pada jahe yang bersifat non-polar lebih dominan dibandingkan komponen semi-polar dan polar pada jahe. Perbedaan tingkat kematangan jahe yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan perolehan rendemen ekstrak karena kandungan senyawa berbeda.

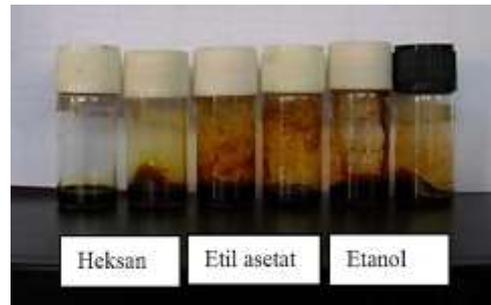
**Tabel 1.** Hasil ekstraksi jahe metode maserasi bertingkat dengan berbagai pelarut

Jenis Ekstrak	Rendemen Ekstrak Jahe (g/100g Serbuk Jahe Kering)	Rendemen Ekstrak Jahe setelah Freeze Dry (g/100g Serbuk Jahe Kering)	Kehilangan Ekstrak Setelah Freeze Dry (% terhadap Jumlah Awal)
Ekstrak heksan (EH)	3.57 ± 0.25	2.68 ± 0.00	24.82
Ekstrak etil asetat (EEA)	3.17 ± 0.08	2.08 ± 0.46	34.23
Ekstrak etanol (EE)	3.02 ± 1.12	0.44 ± 0.45	85.43

Pemekatan diharapkan dapat menguapkan sisa pelarut heksan, etil asetat dan etanol yang terdapat pada ekstrak jahe, namun dapat menyebabkan komponen aktif pada ekstrak jahe ikut menguap dan komponen aktif dapat ikut terdegradasi pada suhu pemekatan tersebut. Perlakuan keringbeku bertujuan menghilangkan air yang masih terkandung dalam ekstrak dan menghindari pengeringan dengan panas yang dapat menghilangkan

komponen volatil dalam ekstrak, namun perlakuan keringbeku menyebabkan rendemen ekstrak jahe berkurang. Kehilangan ekstrak jahe setelah perlakuan keringbeku berakibat hilangnya komponen aktif yang bersifat volatil yang dalam ekstrak jahe.

Menurut Bustan *et al.* (2008) ukuran serbuk jahe yang berbeda serta lamanya waktu ekstraksi dapat berpengaruh terhadap rendemen ekstrak jahe yang dihasilkan. Rendemen yang dihasilkan diduga masih terdapat kadar air dalam jumlah yang sangat kecil pada ekstrak heksan jahe, ekstrak etil asetat jahe, dan ekstrak etanol jahe. Hal tersebut dapat dilihat dari karakteristik fisik hasil ekstrak yang berbentuk pasta setelah tahap perlakuan keringbeku. Warna ekstrak jahe yang diperoleh dengan maserasi bertingkat dapat dilihat pada Gambar 2.

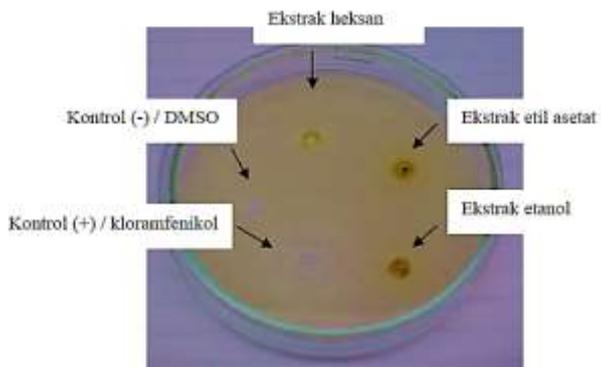


**Gambar 2.** Ekstrak kasar jahe dengan maserasi bertingkat

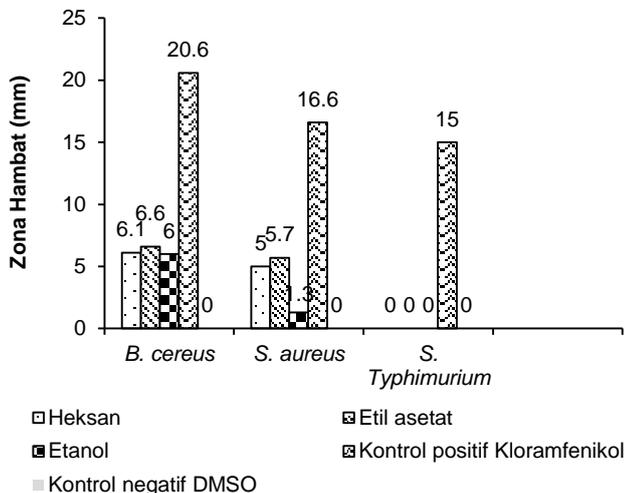
**Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak heksan, etil asetat, dan etanol jahe**

Aktivitas antimikroba ekstrak jahe dapat diketahui melalui pengukuran diameter zona bening yang terbentuk di sekitar sumur pada media NA yang diisi dengan ekstrak sampel, kontrol positif serta kontrol negatif (Gambar 3). Zona hambat diukur dari selisih diameter zona bening yang terbentuk dengan diameter sumur.

Kloramfenikol konsentrasi 100 µg/mL air steril sebagai kontrol positif menunjukkan diameter penghambatan terbesar (15.0–20.6 mm). Pelarut DMSO sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona bening menandakan tidak adanya diameter penghambatan, ekstrak jahe yang dihasilkan dengan pelarut heksan, etil asetat, dan etanol menunjukkan diameter penghambatan yang beragam terhadap bakteri uji (1.3–6.6 mm), kecuali bakteri *S. Typhimurium* tidak menunjukkan adanya diameter penghambatan pada konsentrasi ekstrak jahe 100 mg/mL (Gambar 4).



Gambar 3. Zona bening ekstrak jahe pada bakteri uji



Gambar 4. Zona hambat ekstrak jahe konsentrasi 100 mg/mL terhadap bakteri uji

Ekstraksi heksan jahe, ekstrak etil asetat jahe, dan ekstrak etanol jahe dari maserasi bertingkat konsentrasi 100 mg/mL tidak dapat menghambat bakteri uji *S. Typhimurium*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *S. Typhimurium* lebih tahan terhadap senyawa antimikroba dari ekstrak jahe yang diperoleh dengan maserasi bertingkat. Kandungan ekstrak jahe yang diperoleh dengan maserasi bertingkat pada konsentrasi 100 mg/mL belum mampu melisis sel bakteri *S. Typhimurium*.

Perbedaan respon ini terjadi akibat perbedaan permukaan luar dari dinding sel yaitu lapisan lipopolisakarida (LPS) antara bakteri Gram-negatif dan bakteri Gram-positif. Bakteri Gram-positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana, dengan jumlah peptidoglikan yang relatif banyak. Dinding sel bakteri Gram-negatif memiliki peptidoglikan yang lebih sedikit dan secara struktural lebih kompleks. Membran bagian luar pada dinding sel Gram-negatif mengandung lipopolisakarida, yaitu karbohidrat yang terikat dengan lipid. Lapisan lipopolisakarida ini bersifat toksik (beracun) dan membran bagian luar membantu melindungi bakteri dalam melawan sistem pertahanan sel inangnya (Johnny *et al.* 2010). Adanya lapisan lipopolisakarida dan membran luar pada bakteri *S. Typhimurium* ini menyebabkan struktur bakteri menjadi lebih kokoh sehingga diduga sulit ditembus oleh senyawa antimikroba dari ekstrak jahe yang diperoleh dari maserasi bertingkat.

Penggolongan sifat aktivitas penghambatan ekstrak jahe terhadap bakteri *S. aureus*, *B. cereus* dan *S. Typhimurium* pada penelitian ini didasarkan pada ketentuan Sagdic *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa aktivitas penghambatan bakteri tergolong sangat kuat bila menghasilkan zona penghambatan sebesar >20 mm, tergolong sedang bila menghasilkan zona penghambatan sebesar 16–20 mm, tergolong tipis bila menghasilkan zona penghambatan sebesar 10–15 mm dan tergolong lemah bila menghasilkan zona penghambatan sebesar 6–9 mm. Gambar 4 menunjukkan diameter hambat berupa zona bening yang menandakan adanya penghambatan dihasilkan oleh beragam ekstrak pada bakteri uji.

Ekstrak heksan jahe, ekstrak etil asetat jahe, dan ekstrak etanol jahe yang diperoleh dengan maserasi bertingkat mempunyai kemampuan antimikroba yang tergolong lemah terhadap bakteri uji (1.3–6.6 mm), kecuali *S. Typhimurium* yang tidak menunjukkan aktivitas penghambatan pada konsentrasi ekstrak jahe 100 mg/mL. Secara umum bakteri Gram-positif paling baik dihambat oleh ekstrak etil asetat jahe. Aktivitas antimikroba ekstrak jahe yang tergolong lemah ini disebabkan pemekatan ekstrak jahe menggunakan suhu 50°C untuk ekstrak yang diperoleh dengan pelarut heksan dan etil asetat serta suhu 70°C untuk ekstrak yang diperoleh dengan pelarut etanol serta perlakuan kering-beku yang menyebabkan komponen volatil dalam ekstrak jahe menguap. Pelarut heksan merupakan pelarut organik non-polar yang digunakan pertama dalam tahap ekstraksi menggunakan maserasi bertingkat. Pelarut heksan hanya dapat mengekstrak senyawa-senyawa yang juga bersifat non-polar dari jahe. Kandungan utama senyawa yang ada dalam ekstrak heksan jahe yaitu *zingiberen*, *farnesen*, *β-phellandren*. Senyawa ini diduga berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* (Singh *et al.* 2008). Diameter penghambatan yang diketahui bahwa senyawa non-polar dalam ekstrak jahe dengan maserasi bertingkat merupakan senyawa dengan Aktivitas antimikroba tertinggi kedua (5.0–6.1 mm) setelah ekstrak jahe menggunakan pelarut etil asetat (5.7–6.6 mm) dengan maserasi bertingkat. Ekstrak heksan jahe yang diperoleh dengan maserasi bertingkat mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter penghambatan yang lebih tinggi dibanding ekstrak etanol jahe (1.3–6.0 mm) yang diperoleh dengan maserasi bertingkat terhadap bakteri *S. aureus* dan *B. cereus*. Senyawa steroid dan terpenoid pada jahe diduga ter-ekstrak dalam fraksi heksan jahe gajah dengan maserasi bertingkat. Senyawa steroid dan terpenoid merupakan golongan minyak atsiri termasuk senyawa yang berperan sebagai antimikroba. Minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan mikro-organisme dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel (Fратиwi 2015). Senyawa ini memiliki mekanisme penghambatan dengan cara merusak dinding sel disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel.

Minyak atsiri dapat terekstrak dalam pelarut heksan yang bersifat non-polar. Komponen bioaktif terbesar dalam minyak atsiri jahe telah dikarakterisasi oleh El-Baroty *et al.* (2010) menggunakan bioautografi TLC yaitu  $\beta$ -sesquiphellandren, caryophyllen, dan zingiberen. Senyawa tersebut berperan dalam menghambat bakteri *B. subtilis*, *S. aureus*, dan *K. pneumoniae*.

Pelarut etil asetat merupakan pelarut kedua yang digunakan pada ekstraksi jahe gajah maserasi bertingkat setelah pelarut heksan. Pelarut etil asetat jahe dapat mengekstrak senyawa alkaloid, flavonoid, dan glikosida pada ekstrak jahe gajah. Senyawa flavonoid pada jahe diduga terekstrak dalam fraksi etil asetat jahe gajah dengan maserasi bertingkat. Flavonoid berfungsi sebagai bahan antimikrob dengan membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel dan merusak membran (Pepeljnjak *et al.* 2005). Membran sitoplasma pada bakteri berperan mempertahankan kandungan di dalam sel serta mengatur keluar masuknya bahan-bahan yang dibutuhkan oleh sel bakteri. Membran berfungsi memelihara integritas komponen-komponen seluler. Senyawa yang bersifat antimikroba dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada membran sel. Kerusakan pada membran sel dapat mengakibatkan pertumbuhan sel terganggu bahkan dapat menyebabkan sel mati (Cowan 2009).

Senyawa alkaloid pada jahe diduga terekstrak dalam fraksi etil asetat jahe gajah dengan maserasi bertingkat. Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Wulandari *et al.* 2009). Kuatnya aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat jahe disebabkan karena pelarut etil asetat yang bersifat semi-polar sehingga senyawa yang terkandung di dalam ekstrak jahe merupakan senyawa-senyawa yang bersifat semi-polar. Senyawa antimikroba yang bersifat semi-polar memiliki aktivitas antimikroba yang baik karena senyawa antimikroba membutuhkan keseimbangan sifat hidrofilik-lipofilik untuk mendapatkan aktivitas antimikroba yang optimal.

Pelarut etanol merupakan pelarut polar tahap akhir ekstraksi jahe maserasi bertingkat. Ekstrak etanol jahe yang diperoleh mempunyai kemampuan menghambat bakteri uji terendah dibandingkan ekstrak heksan jahe dan ekstrak etil asetat jahe. Rendahnya aktivitas penghambatan ekstrak etanol jahe gajah ini disebabkan kandungan komponen aktif pada ekstrak etanol berkurang akibat ekstraksi sebelumnya yang menggunakan etil asetat. Senyawa bersifat polar yang ikut terekstrak dalam pelarut etil asetat menyebabkan berkurangnya komponen aktif pada ekstrak etanol jahe.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat jahe yang diperoleh dari maserasi bertingkat memiliki aktivitas antimikroba yang tertinggi terhadap bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* sehingga ekstrak etil asetat dijadikan sebagai ekstrak terpilih untuk tahap selanjutnya yaitu tahap pengujian aktivitas penghambatan dengan menggunakan metode *dillution broth* terhadap bakteri yang menunjukkan

penghambatan oleh ekstrak etil asetat yaitu bakteri *B. cereus* dan *S. aureus*.

### Pengujian aktivitas penghambatan ekstrak etil asetat jahe

Ekstrak etil asetat jahe akan menunjukkan aktivitas antimikroba kandungan semi-polar dari jahe. Penurunan jumlah bakteri dihitung berdasarkan persentase selisih dari jumlah koloni yang tumbuh setelah 24 jam dengan jumlah koloni yang tumbuh pada 0 jam dibagi jumlah koloni yang tumbuh pada 0 jam. Nilai konsentrasi hambat minimal (MIC) ditentukan jika pada konsentrasi ekstrak jahe terendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau terjadi penurunan jumlah bakteri sebesar 90% dari jumlah bakteri awal. Nilai penghambatan secara kuantitatif didapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil pengujian aktivitas penghambatan ekstrak etil asetat jahe

Jenis Bakteri	Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat Jahe (mg/mL)	Jumlah Bakteri (CFU/mL)		Penurunan Jumlah Bakteri (%)
		Inkubasi 0 jam	Inkubasi 24 jam	
<i>B. cereus</i>	0	$2.3 \times 10^5$	$1.0 \times 10^8$	-
	5	$1.9 \times 10^5$	$1.0 \times 10^7$	-
	10	$1.8 \times 10^5$	$4.7 \times 10^5$	-
	15	$3.2 \times 10^5$	$8.8 \times 10^4$	73.13
	20	$2.0 \times 10^5$	$2.2 \times 10^4$	85.22
<i>S. aureus</i>	0	$9.0 \times 10^5$	$1.5 \times 10^9$	-
	5	$8.7 \times 10^5$	$9.8 \times 10^6$	-
	10	$9.1 \times 10^5$	$5.2 \times 10^6$	-
	15	$9.4 \times 10^5$	$4.7 \times 10^6$	-
	20	$9.1 \times 10^5$	$4.8 \times 10^6$	47.25

Konsentrasi ekstrak etil asetat jahe dengan maserasi bertingkat suhu pemekatan  $50^\circ\text{C}$  menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri uji *B. cereus* dan *S. aureus* setelah inkubasi 24 jam dibandingkan jumlah bakteri awal, namun belum mencapai 90%. Pada konsentrasi sampai 20 mg/mL nilai konsentrasi hambat minimal (MIC) tidak tercapai.

Penelitian Coopoosamy *et al.* (2010) menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang lebih rendah ekstrak etil asetat dengan maserasi tunggal dari tanaman *Siphonochilus aethiopicus* sebesar 4.0 mg/mL telah dapat menghambat minimal terhadap bakteri *S. aureus* dan *B. cereus*. Nilai MIC lebih rendah menunjukkan ekstrak etil asetat tanaman *Siphonochilus aethiopicus* lebih efektif dibandingkan ekstrak etil asetat jahe yang diperoleh dengan maserasi bertingkat. *Siphonochilus aethiopicus* merupakan jenis tanaman yang dikenal sebagai jahe liar berasal dari Afrika Selatan. *Siphonochilus aethiopicus* bukan termasuk dalam genus Zingiber.

Ekstrak metanol jahe dengan maserasi tunggal didapatkan nilai penghambatan minimal 0.66 mg/mL pada *B. cereus* dan 2.64 mg/mL pada *S. aureus* (Al-Zoreky dan Nakahara 2003). Ekstrak jahe dengan satu macam pelarut metanol dapat menghasilkan aktivitas antimikroba yang lebih kuat dibandingkan aktivitas antimikroba ekstrak jahe yang dihasilkan dengan metode maserasi bertingkat. Ekstrak dengan maserasi tunggal dapat mengekstrak komponen yang tidak lebih spesifik

dari maserasi bertingkat. Hal ini menandakan adanya sinergi antar komponen pada ekstrak jahe dalam satu macam pelarut. Ekstraksi komponen aktif pada jahe dengan menggunakan maserasi bertingkat pada suhu pemekatan yang digunakan dalam penelitian ini tidak berpotensi untuk dikembangkan sebagai metode dalam mengekstrak komponen jahe untuk keperluan antimikroba alami.

## KESIMPULAN

Zona hambat ekstrak jahe kering beku (100 mg/mL) terhadap *B. cereus* berturut-turut sebesar 6.1 mm, 6.6 mm dan 6.0 mm untuk ekstrak heksan, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol, dan terhadap *S. aureus* masing-masing sebesar 5.0, 5.7, dan 1.3 mm. Ketiga ekstrak jahe tidak menunjukkan penghambatan terhadap *S. Typhimurium*. Ekstrak etil asetat dipilih karena menunjukkan penghambatan pada bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* dari difusi sumur untuk diuji lanjut daya penghambatannya dengan metode *dillution broth*. Ekstrak etil asetat yang diuji pada konsentrasi sampai 20 mg/mL menurunkan *B. cereus* dan *S. aureus* sebanyak 85 dan 47% dari jumlah bakteri awal, perlu penggunaan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menurunkan jumlah bakteri sebanyak 90%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akimoto M, Iizuka M, Kanematsu R, Yoshida M, Takenaga K. 2015. Anticancer effect of ginger extract against pancreatic cancer cells mainly through reactive oxygen species-mediated autotic cell death. *PLoS ONE* 10(5): e0126605. DOI: 10.1371/journal.pone.0126605.
- Al-Zoreky NS, Nakahara K. 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Mic* 80: 223-230. DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00169-1.
- [BAM] Bacteriological Analytical Manual. 2001. Aerobic plate count. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm063346.htm>. [2 Agustus 2011].
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2010. Luas panen, produksi dan produktivitas jahe 2010. [http://www.bps.go.id/tab\\_sub/view.php?tabel=1&daftar=1&id\\_subyek=55&notab=8](http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?tabel=1&daftar=1&id_subyek=55&notab=8). [28 Juli 2011].
- Bustan MD, Febriyani R, Pakpahan H. 2008. Pengaruh waktu ekstraksi dan ukuran partikel terhadap berat oleoresin jahe yang diperoleh dalam berbagai jumlah pelarut organik (metanol). *J Tek Kim* 4(15): 16-26.
- [CDRH] Center for Devices and Radiological Health. 2009. Guidance for industry and FDA class II special controls guidance document: antimicrobial susceptibility test (AST) systems. <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm071462.pdf>. [17 Agustus 2011].
- Chan EWC, Lim YY, Wong LF, Lianto FS, Wong SK, Lim KK, Joe CE, Lim TY. 2008. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of and rhizomes of ginger species leaves. *J Food Chem* 109: 477-483. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.02.016.
- Chrubasik S, Pittler MH, Roufogalis BD. 2005. *Zingiberis rhizoma*: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine* 12(9): 684-701. DOI: 10.1016/j.phymed.2004.07.009.
- Cooposamy RM, Naidoo KK, Buwa L, Mayekiso B. 2010. Screening of *Siphonochilus aetiopicus* (Schweinf.) B. L. Burtt for antibacterial and antifungal properties. *J Med Plants Res* 4(12): 1228-1231.
- Cowan M. 2009. Plant product as antimicrobial agent. *Clinical Microbiol Reviews* 12(4): 564-582. DOI: 10.1128/CMR.12.4.564.
- El-Baroty GS, El-Baky HHA, Farag RS, Saleh MA. 2010. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *Afr J Bio Res* 4(6): 167-174.
- Fratiwi Y. 2015. The potential of guava leave (*Psidium guajava* L.) for diarrhea. *J Majority* 4(1): 113-118.
- Johnny F, Roza D, Mastuti I. 2010. Aplikasi Imunostimulan untuk Meningkatkan imunitas Non-spesifik Ikan Kerapu Macan, *Epinephelus fuscoguttatus* terhadap Penyakit Infeksi di Hatchery. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur* 2010. 945-949.
- Jolad SD, Lantz RC, Solyom AM, Chen GJ, Bates RB, Timmermann BN. 2004. Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-induced PGE2 production. *J Phyto* 65: 1937-1954.
- Mishra N, Behal KK. 2010. Antimicrobial activity of some spices against selected microbes. *Int J Pharm Sci* 2(3): 187-196.
- Parhusip AJN. 2006. Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zantoxylum acanthopodium* DC) terhadap Bakteri Patogen Pangan. [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Pepeljnjak S, Kalodera Z, Zovko M. 2005. Antimicrobial activity of flavonoid from *Pelargonium radula* (cav.) L'herit. *Acta Pharm* 55: 431-435.
- Prescott LM, Harley JP, Klein DA. 2005. *Microbiology Sixth Edition*. McGraw-Hill Co Inc, New York.
- Puengphan C, Sirichote A. 2008. [6]-gingerol content and bioactive properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts from supercritical CO2 extraction. *As. J Food Ag-Ind* 1(01): 29-36.

- Radiati LE. 2002. Mekanisme Penghambatan Virulensi Bakteri Entropatogen oleh Ekstrak Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe). [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahminiwati M, Mustika AAP, Saadiah S, Andriyanto, Soeripto, Unang P. 2010. Bioprospeksi ekstrak jahe gajah sebagai anti-CRD: kajian aktivitas antibakteri terhadap *Mycoplasma galliseptikum* dan *E. coli* in vitro. *J Ilmu Pertanian Indonesia* 7-13.
- Sagdic O, Yasar S, Kisioglu AN. 2005. Antibacterial effects of single or combined plant extracts. *Annals Microbiol* 55(1): 67-71.
- Sari KIP, Periadnadi, Nasir N. 2013. Uji antimikroba ekstrak segar jahe-jahean (Zingiberaceae) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. *J Bio UA* 2(1): 20-24. ISSN: 2303-2162
- Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int J Food Mic* 117: 112–119. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.03.003.
- Singh G, Kapoor IPS, Singh P, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CAN. 2008. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *J Food and Chem Tox* 46: 3295–3302. DOI: 10.1016/j.fct.2008.07.017.
- Singh J. 2008. Maceration, Percolation and Infusion Techniques for the Extraction of Medicinal and Aromatic Plants. Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD, editor. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre for Science and High Technology, Italia.
- Todd ECD, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS. 2009. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 6. Transmission and survival of pathogens in the food processing and preparation environment. *J Food Prot* 72(1): 202–219. DOI: 10.4315/0362-028X-72.1.202.
- Trusheva B, Trunkova D, Bankova V. 2007. Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. *Chem Cen J* 1: 13. DOI: 10.1186/1752-153X-1-13\_
- Wulandari R, Utami P, Hartanti D. 2009. Penapisan fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba pulutan (*Urena lobata* Linn.). *Pharmacy* 6(1): 5.

---

JMP-03-17-05-Naskah diterima untuk ditelaah pada 3 Februari 2017. Revisi makalah disetujui untuk dipublikasi pada 22 Maret 2017. Versi Online: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/jmpi>