

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI RIMPANG LENGKUAS PUTIH (*Alpinia galanga*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Bacillus subtilis* SERTA BIOAUTOGRAFINYA

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Alpinia galanga* EXTRACTS AND FRACTIONS AGAINST THE BACTERIA *Pseudomonas aeruginosa* AND *Bacillus subtilis* AND THEIR BIOAUTOGRAPHY

Indah Tri Puspita, Cita Hanif Muflihah*
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta,
*E-mail: chm641@ums.ac.id

Abstrak

Infeksi adalah penyakit yang dapat menimbulkan gejala klinis atau asimtomatis yang dipicu oleh mikroorganisme seperti bakteri. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang dapat menimbulkan infeksi nosokomial. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* dan mengidentifikasi golongan senyawa yang berperan sebagai agen antibakteri. Ekstrak diperoleh dari maserasi lengkuas menggunakan metanol 70%. Metode difusi disk dipilih dalam uji aktivitas antibakteri. Sampel yang diuji adalah ekstrak dengan konsentrasi 10,5; 12; 13,5; dan 15 mg/disk, fraksi metanol 15 mg/disk, fraksi etil asetat 15 mg/disk, fraksi kloroform 15 mg/disk, kloramfenikol sebagai kontrol positif, dan DMSO sebagai kontrol negatif. Hasil uji ekstrak metanol menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 15 mg/disk dengan diameter zona hambat berturut-turut adalah $13,5 \pm 0,41$ mm dan $16,0 \pm 0,41$ mm. Hasil uji fraksi etil asetat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terbesar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* dengan diameter zona hambat berturut-turut adalah $12,0 \pm 0,41$ mm dan $13,7 \pm 0,24$ mm. Identifikasi golongan senyawa rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) menggunakan metode KLT dengan silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diam, kloroform : etil asetat (1:1 v/v) sebagai fase gerak untuk mengelusi plat ekstrak, dan kloroform : metanol (9:3 v/v) sebagai fase gerak untuk mengelusi plat fraksi etil asetat. Hasil uji fitokimia rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) menunjukkan ekstrak metanol positif mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, dan terpenoid, sedangkan pada fraksi etil positif mengandung fenolik, flavonoid, dan terpenoid. Uji bioautografi menunjukkan golongan senyawa yang mampu menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri *Bacillus subtilis* adalah fenolik, flavonoid, dan terpenoid.

Kata Kunci: *Alpinia galanga*, aktivitas antibakteri, *Bacillus subtilis*, bioautografi, *Pseudomonas aeruginosa*.

Abstract

Infection is a disease that can cause clinical symptoms or asymptomatic triggered by microorganisms such as bacteria. *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* are bacteria that can cause nosocomial infections. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of extracts and fractions of white galangal rhizome (*Alpinia galanga*) against the *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* and identify the class of compounds that act as antibacterial agents. Extract obtained from maceration of galangal using 70% methanol. Disc diffusion method was chosen in the antibacterial activity test. The samples tested were extracts with a concentration of 10.5; 12; 13.5; and 15 mg/disc, methanol fraction 15 mg/disc, ethyl acetate fraction 15 mg/disc, chloroform fraction 15 mg/disc, chloramphenicol as positive control, and DMSO as negative control. The results of the methanol extract test showed antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*

and *Bacillus subtilis* at a concentration of 15 mg/disk with inhibition zone diameters of 13.5 ± 0.41 mm and 16.0 ± 0.41 mm. The results of the ethyl acetate fraction test showed the greatest antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* with inhibition zone diameters of 12.0 ± 0.41 mm and 13.7 ± 0.24 mm. Identification of white galangal rhizomes (*Alpinia galanga*) compounds using the TLC method with silica gel GF254 as the stationary phase, chloroform : ethyl acetate (1:1 v/v) as the mobile phase to elute the extract plate, and chloroform : methanol (9:3 v/v) as the mobile phase to elute the ethyl acetate fraction plate. Phytochemical test results of white galangal rhizome (*Alpinia galanga*) showed the methanol extract positively contained alkaloids, phenolics, flavonoids and terpenoids, while the ethyl fraction positively contained phenolics, flavonoids and terpenoids. Bioautographic tests showed that the class of compounds capable of inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* bacteria were phenolics, flavonoids, and terpenoids.

Keywords: *Alpinia galanga*, antibacterial activity, *Bacillus subtilis*, bioautography, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Infeksi adalah penyakit yang dapat menimbulkan gejala klinis maupun asimtomatik yang dipicu oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, atau parasit (Joegijiantoro, 2019). Infeksi yang kerap terjadi di Asia Tenggara adalah infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang timbul di rumah sakit dalam jangka waktu 48 jam sesudah dirawat di rumah sakit (Widodo and Irwanto, 2014). Menurut WHO (2002) angka kejadian infeksi nosokomial tertinggi tersebar di Asia Tenggara (10%), Mediterania Timur (11,8%), Eropa (7,7%), dan Pasifik Barat (9,0%). *Pseudomonas aeruginosa* termasuk jenis bakteri Gram negatif oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi pada pasien dengan gangguan sistem imun, penyakit kritis, penderita *cystic fibrosis* atau luka bakar, serta patogen utama pneumonia yang terdapat di rumah sakit dan infeksi saluran kemih terkait kateter (Chuang *et al.*, 2017). Bakteri ini penyebab 10-20% infeksi nosokomial karena banyak terdapat di rumah sakit, seperti peralatan-peralatan medis, kateter, cairan intravena, dan bahkan sabun (Karsinah *et al.*, 1994). *Bacillus subtilis* adalah bakteri Gram positif yang dapat membahayakan manusia karena dapat memicu berbagai macam infeksi baik dalam menyerang saluran cerna sistem kekebalan tubuh yang lemah, maupun bertindak sebagai nosokomial (El Jannah, 2020). Menurut penelitian Ruhimat *et al.* (2022), *Bacillus subtilis* berpotensi menyebabkan infeksi nosokomial karena banyak ditemukan di lingkungan rumah sakit, seperti tempat tidur, gagang pintu, ruang isolasi, udara ruangan, dan lain-lain. *Bacillus subtilis* juga dapat menyebabkan infeksi mata, meningitis, endokarditis, dan penyakit lainnya (Rahim *et al.*, 1994).

Pemakaian antibiotik yang tidak rasional dapat menimbulkan resistensi pada mikroba patogen dan resistensi mikroba ini menjadi pencetus utama kegagalan pengobatan penyakit infeksi (Nobiola *et al.*, 2020). Masalah resistensi antibiotik muncul ketika bakteri bermutasi sehingga mengakibatkan hilangnya potensi antibiotik atau senyawa kimia yang dimanfaatkan untuk mengobati infeksi (Hasan *et al.*, 2019). Oleh karena itu, perlu alternatif agen antibakteri baru dalam menangani infeksi dengan memanfaatkan potensi antibakteri dari tanaman obat. Lengkuas putih atau *Alpinia galanga* adalah tanaman rimpang monokotil yang tergolong dalam famili Zingiberaceae (Trimanto *et al.*, 2021). Lengkuas putih berasal dari Asia Tenggara, dan telah digunakan sebagai obat tradisional untuk meredakan gangguan pencernaan, muntah, sakit perut, kurap dan penyakit kulit (Tungmunthum *et al.*, 2020). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa *Alpinia galanga* memiliki banyak aktivitas farmakologis, seperti antibakteri, antivirus, antijamur, antiprotozoal, antioksidan, imunomodulator, antiplatelet, antidiabetes,

hipolipidemik dan banyak efek farmakologis lainnya (Al-Snafi, 2014). Hasil uji fitokimia pada penelitian Anggreine dan Heryani (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol, ekstrak aquadest, ekstrak etil asetat, dan ekstrak aseton dari rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) positif mengandung terpenoid, alkaloid, saponin, fenolik, dan flavonoid. Diantara beberapa kandungan senyawa tersebut, senyawa golongan terpenoid, saponin, dan flavonoid bersifat antifungal yang bersifat lipofilik sehingga golongan senyawa tersebut juga diduga mampu sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian Hasan *et al.* (2019), ekstrak etanol lengkuas putih bersifat antibakteri karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang resisten. Pada penelitian tersebut, hasil uji metode disk dan sumuran pada konsentrasi 50% menunjukkan rerata diameter zona hambatnya sebesar 8,41 mm dan 9,16 mm. Hasil pengujian oleh Prihannensia *et al.* (2018), gel dan ekstrak etanol lengkuas putih mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermis* dengan hasil rata-rata diameter daya hambat pada konsentrasi gel 20% dan ekstrak 20% berturut-turut adalah 12 mm dan 10 mm. Selanjutnya penelitian oleh Amelia *et al.* (2010), gel ekstrak etanol rimpang lengkuas putih juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan hasil rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 20% adalah 27,8 mm dan 15,6 mm.

Berdasarkan pemaparan di atas, belum ada penelitian terhadap uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi kloroform, etil asetat, dan metanol lengkuas putih (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* serta uji bioautografinya, sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan golongan senyawa yang berperan sebagai agen antibakteri.

METODE

Alat

Peralatan yang dibutuhkan berupa oven, *cabinet dryer*, blender, timbangan analitik, bejana maserasi, alat saring, *rotary evaporator*, *waterbath*, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, autoklaf, *shaker incubator*, corong pisah, gelas beaker, pembakar bunsen, gelas ukur, rak tabung, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, *spreader glass*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *UV lamp* 254 nm dan 366 nm, pinset, ose bulat, mikropipet, pipet ukur, propipet, pipa kapiler, dan penggaris.

Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan berupa rimpang lengkuas putih yang diperoleh dari Pasar Kleco, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi UMS, bakteri *Bacillus subtilis* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi USB, metanol 70%, metanol 80%, kloroform, etil asetat, aquadest, natrium klorida (NaCl) 0,9% steril, dimetil sulfoksida (DMSO), standar 0,5 Mc. Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL), *Brain Heart Infusion* (BHI), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA), kertas saring Whatman no 41, *yellow tips*, *blue tips*, *blank disc* (Oxoid™), plat silika gel GF₂₅₄, pereaksi semprot Liebermann-Burchard, Dragendorff, FeCl₃, dan Sitroborat, serta disk antibiotik tetrasiklin 30 µg, kloramfenikol 30 µg, dan ampisilin 10 µg (Oxoid™).

Prosedur Penelitian

Pembuatan Simplisia

Rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) dicuci hingga bersih dan ditiriskan. Selanjutnya rimpang lengkuas putih diiris tipis dan dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* bersuhu 50°C

selama 3 hari. Rimpang lengkuas yang telah kering dihaluskan menggunakan blender (Khusnul and Suhartati, 2018).

Ekstraksi

Serbuk rimpang lengkuas putih seberat 570 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan dilarutkan dengan metanol 70% (Muniandy *et al.*, 2019) dan dimaserasi selama 72 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan (Khusnul and Suhartati, 2018). Larutan disaring menggunakan kertas whatman no 41 (Khusnul and Suhartati, 2018). Setelah disaring, simplisia diremaserasi 1 kali dengan cara yang sama dan hasil maserasi dijadikan satu. Filtrat yang didapat diuapkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga dihasilkan filtrat yang pekat (Kurniawan *et al.*, 2019). Filtrat yang pekat diuapkan kembali menggunakan *waterbath* pada suhu 35-40°C hingga didapat ekstrak yang kental. Ekstrak kental ditimbang dan dihitung persen rendemennya, lalu disimpan dalam lemari pendingin (Malik *et al.*, 2016).

Fraksinasi

Ekstrak kental lengkuas putih sebanyak 30 gram dilarutkan dengan 100 mL metanol 80% dan dituang ke dalam corong pisah. Sebanyak 100 mL kloroform ditambahkan ke dalam corong pisah, kemudian campuran dikocok dan didiamkan hingga diperoleh lapisan metanol (bagian atas) dan lapisan kloroform (bagian bawah). Kedua lapisan dipisahkan. Lapisan metanol dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan ditambah 100 mL etil asetat, kemudian campuran dikocok dan didiamkan hingga diperoleh lapisan metanol (bagian atas) dan lapisan etil asetat (bagian bawah). Ketiga larutan fraksi diuapkan menggunakan *waterbath* bersuhu 40°C hingga didapat fraksi kloroform, etil asetat, dan metanol yang kental. Masing-masing fraksi ditimbang dan dihitung persen rendemennya, lalu disimpan dalam lemari pendingin (Silap *et al.*, 2020).

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat gelas seperti cawan petri, tabung reaksi, dan sebagainya disterilkan dengan oven bersuhu 180°C selama 2 jam (Azizah *et al.*, 2020). Untuk media dan tip mikropipet disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan ose bulat, pinset, dan *spreader glass* disterilkan dengan pembakaran diatas api bunsen (Luntungan *et al.*, 2021).

Persiapan Media

Sebanyak 2,8 g *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan ke dalam 100 mL air (Torar, 2017), sebanyak 3,7 g *Brain Heart Infusion* (BHI) dilarutkan ke dalam 100 mL air (Tias dan Kamaratih, 2022), dan sebanyak 3,8 g *Mueller Hinton Agar* (MHA) dilarutkan ke dalam 100 mL air, kemudian dijadikan homogen dengan pemanasan diatas *hot plate magnetic stirrer*. Larutan disterilkan selama 15 menit menggunakan autoklaf bersuhu 121°C. Setelah steril, MHA, NA, dan BHI ditunggu hingga suhu turun sekitar 40°C, lalu MHA dan NA dituang ke cawan petri steril dan BHI dituang ke tabung reaksi steril (Nofita, 2020).

Peremajaan Kultur Murni Bakteri dan Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* dibuat dengan mengambil 3-5 koloni kultur murni dari bakteri uji menggunakan ose bulat steril dan diinokulasikan ke 5 mL media BHI. Kemudian, biakan diinkubasi menggunakan *shaker incubator* selama 18-24 jam. Suspensi bakteri pada media BHI cair dikulturkan pada media NA dengan cara mengambil bakteri uji menggunakan ose bulat steril dan digoreskan secara *streak plate*. Biakan diinkubasi pada suhu 37°C sekitar 18-24 jam, lalu disimpan di lemari pendingin sebagai stok bakteri

(Sulistiyani and Narwanti, 2017). Suspensi BHI bakteri uji diambil 200 μL dengan mikropipet lalu disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9% dan kekeruhan disamakan dengan standar kekeruhan larutan standar 0,5 Mc. Farland ($1,5 \times 10^8 \text{ CFU/mL}$) (Nurwaini and Savitri, 2020).

Uji Sensitivitas Bakteri

Sebanyak 200 μL suspensi NaCl 0,9% bakteri uji dituang pada media MHA menggunakan propipet dan digoreskan merata menggunakan *spreader glass*. Disk antibiotik diletakkan pada permukaan media MHA yang telah mengandung bakteri uji dengan jarak tertentu, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya potensi antibiotik ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekeliling disk pada media (Utomo *et al.*, 2018). Disk antibiotik yang diujikan adalah tetrasiklin 30 μg , kloramfenikol 30 μg , dan ampisilin 10 μg (Oxoid™).

Uji Aktivitas Antibakteri

Media MHA dituang 200 μL suspensi NaCl 0,9% bakteri uji dan digoreskan merata menggunakan *spreader glass*. *Blank disc* (Oxoid™) ditetesi sebanyak 15 μL larutan sampel dan didiamkan agar larutan sampel terserap sempurna. Disk yang mengandung sampel tersebut dan disk pengontrol diletakkan dengan jarak tertentu pada permukaan media MHA yang sudah diinokulasikan suspensi bakteri uji, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Utomo *et al.*, 2018).

Larutan sampel yang diujikan adalah ekstrak dengan konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 100% (b/v) dalam DMSO, fraksi kloroform 100% b/v, fraksi etil asetat 100% b/v, dan fraksi metanol 100% b/v. Kontrol negatif menggunakan DMSO dan kontrol positif menggunakan antibiotik dengan zona hambat terbesar pada uji sensitivitas. Larutan ekstrak 100% b/v dibuat dengan menimbang 5 gram ekstrak kental dan dilarutkan dalam 5 mL DMSO, kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 90%, 80%, dan 70% (Azzahra *et al.*, 2023). Larutan fraksi 100% b/v dibuat dengan menimbang masing-masing 1 gram fraksi dan dilarutkan dalam 1 mL DMSO. Kontrol positif dibuat dengan menimbang isi dari kapsul kloramfenikol Kalmicetine® 250 mg sebanyak 2,39 mg sesuai perhitungan dan dilarutkan dalam 1 mL DMSO, lalu *blank disc* (Oxoid™) ditetesi sebanyak 15 μL larutan antibiotik sehingga diperoleh konsentrasi disk kloramfenikol 30 μg (Widiastuti *et al.*, 2017).

Uji Fitokimia

Plat silika gel GF₂₅₄ diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan selama 30 menit dengan oven bersuhu 100°C . Plat yang telah aktif masing-masing ditotolkan ekstrak dan fraksi lengkuas menggunakan pipa kapiler, lalu diletakkan ke dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh. Fase gerak kloroform:etil asetat (1:1 v/v) digunakan untuk mengelusi plat ekstrak lengkuas dan fase gerak kloroform : metanol (9:3 v/v) untuk mengelusi plat fraksi lengkuas. Plat KLT dikeluarkan dari *chamber*, bercak diamati dibawah lampu UV 366 nm dan 254 nm (Trimulyani, 2019). Bercak diidentifikasi dengan beberapa pereaksi semprot, seperti Dragendorff untuk alkaloid, Liebermann-Burchard untuk terpenoid, FeCl_3 untuk fenolik (Ambarwati *et al.*, 2015), dan sitroborat untuk flavonoid (Yadnya *et al.*, 2020), lalu bercak diamati dibawah lampu UV 366 nm dan sinar tampak.

Uji Bioautografi

Plat silika gel GF₂₅₄ diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan selama 30 menit dengan oven bersuhu 100°C . Plat yang telah aktif masing-masing ditotolkan ekstrak dan fraksi lengkuas menggunakan pipa kapiler, lalu diletakkan ke dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh. Plat KLT dikeluarkan dari *chamber*, bercak diamati dibawah lampu UV 366 nm dan 254

nm (Trimulyani, 2019). Plat KLT ditempelkan pada permukaan media MHA yang sudah diinokulasikan suspensi bakteri uji (Trimulyani, 2019). Plat KLT didiamkan selama 30 menit (Paputungan *et al.*, 2019), lalu lempeng diangkat dan media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil diamati dengan menghitung Rf pada zona hambat yang terbentuk dan bandingkan hasil nilai Rf tersebut dengan hasil nilai Rf pada plat KLT (Trimulyani, 2019).

Analisis Data

Analisis hasil persentase ekstrak dan fraksi lengkuas putih (*Alpinia galanga*) dihitung menggunakan rumus (Silap *et al.*, 2020) :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot hasil ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot hasil fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\% \quad (2)$$

Analisis hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening disekitar disk (Utomo *et al.*, 2018). Analisis hasil KLT-bioautografi dilakukan dengan membandingkan nilai Rf pada zona hambat yang terbentuk dengan nilai Rf pada bercak plat KLT saat uji fitokimia (Trimulyani, 2019). Faktor hambatan (Rf) adalah nilai rasio antara jarak yang ditempuh pusat bercak dari totolan terhadap jarak total yang ditempuh fase gerak (Depkes RI, 2020). Nilai Rf dihitung dengan rumus :

$$\text{Rf} = \frac{\text{Jarak pusat bercak dari totolan}}{\text{Jarak pengembangan}} \% \quad (3)$$

Data uji aktivitas ekstrak dan fraksi lengkuas putih (*Alpinia galanga*) dianalisis menggunakan Shapiro-Wilk untuk menguji normalitas dan homogenitas terhadap hasil data diameter zona hambat. Jika data memenuhi maka dilanjutkan uji One-way ANOVA, sedangkan apabila data tidak memenuhi maka dilanjutkan uji Kruskal Wallis (Riwanti *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Simplisia

Rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) dicuci menggunakan air hingga bersih agar tanah dan kotoran yang melekat tidak terbawa selama proses pengeringan. Selanjutnya rimpang diiris tipis bertujuan untuk mempersingkat waktu pengeringan. Rimpang dikeringkan dalam *cabinet dryer* pada suhu 50°C. Rimpang lengkuas yang telah kering diserbukkan menggunakan blender. Penyerbukan ini bertujuan memperkecil ukurannya agar kontak simplisia dengan pelarut semakin luas, sehingga zat aktifnya dapat tersari lebih banyak (Sineke, 2016). Bobot simplisia yang diperoleh adalah 570 gram.

Hasil Ekstraksi

Maserasi adalah teknik merendam simplisia menggunakan solven disertai beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan (Depkes RI, 2000). Pelarut yang digunakan adalah metanol 70%. Pelarut metanol mampu melarutkan senyawa-senyawa polar dan nonpolar, karena gugus hidroksi pada struktur metanol mampu menarik senyawa polar, sedangkan gugus metil pada struktur metanol mampu menarik senyawa nonpolar sehingga metanol sangat baik digunakan untuk mengekstraksi kandungan metabolit sekunder dalam rimpang *Alpinia galanga* (Saputra *et al.*, 2018). Selama proses maserasi perlu sesekali dilakukan pengadukan agar membantu mempercepat waktu pelarut dalam mengekstraksi simplisia (Handoyo, 2020). Pengadukan ini

diperlukan agar semua permukaan serbuk dapat kontak langsung dengan pelarut, sehingga senyawa dalam lengkuas (*Alpinia galanga*) dapat tersari dengan baik.

Remaserasi adalah penambahan pelarut kembali setelah penyaringan (Depkes RI, 2000). Simplisia perlu diremaserasi agar zat aktif yang terkandung dalam *Alpinia galanga* dapat maksimal tersari oleh pelarut. Selanjutnya, filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* sampai pelarut habis bertujuan untuk memisahkan filtrat dengan pelarutnya dan diperoleh filtrat yang pekat (Kurniawan *et al.*, 2019). Dari 570 gram bobot simplisia *Alpinia galanga*, diperoleh bobot ekstrak kental seberat 96,48 gram, sehingga persen rendemennya sebesar 16,93% (Tabel 1).

Hasil Fraksinasi

Metode fraksinasi yang digunakan adalah *Liquid-liquid Extraction* (Fraksinasi Cair-cair), yaitu proses pemisahan zat aktif dalam ekstrak yang dilarutkan dalam pelarut dengan cara menambahkan pelarut lain yang berbeda polaritasnya dan tidak saling bercampur (Nugroho, 2017). Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan zat aktif berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu polar, semi polar, dan non polar (Trimulyani, 2019). Tiga macam pelarut digunakan dalam penelitian ini, yaitu metanol 80%, etil asetat, dan kloroform. Senyawa polar akan tertarik oleh metanol, senyawa semipolar akan tertarik oleh etil asetat, dan senyawa nonpolar akan tertarik oleh kloroform.

Di dalam corong pisah, dua jenis pelarut yang berbeda akan membentuk dua fase, yaitu lapisan bagian atas merupakan pelarut yang massa jenisnya lebih kecil, sedangkan lapisan bawah merupakan pelarut yang massa jenisnya lebih besar (Nugroho, 2017). Ketiga larutan fraksi yang telah terpisah diuapkan menggunakan *waterbath* dengan cawan porselin ditutup dengan alumunium yang diberi lubang, tujuannya untuk meminimalisir hilangnya senyawa yang mudah menguap. Hasil rendemen dari fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi kloroform dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen ekstrak dan fraksi lengkuas putih (*Alpinia galanga*)

Sampel	Bobot sampel (g)	Rendemen (%)
Ekstrak metanol 70%	570	16,93%
Fraksi kloroform	2,17	7,23%
Fraksi etil asetat	3,14	10,47%
Fraksi metanol 80%	22,13	73,77%

Berdasarkan Tabel 1, diperoleh bobot fraksi kental metanol 80% seberat 22,13 gram, bobot fraksi kental etil asetat seberat 3,14 gram, dan bobot fraksi kental kloroform seberat 2,17 gram, sehingga hasil persen rendemen berturut-turut adalah 73,767%, 10,467%, dan 7,23%. Hasil rendemen ketiga fraksi ini menyatakan bahwa senyawa dalam lengkuas putih (*Alpinia galanga*) mayoritas ditarik oleh pelarut polar. Oleh karena itu dalam lengkuas putih (*Alpinia galanga*) dapat dikatakan banyak mengandung golongan senyawa bersifat polar.

Hasil Uji Sensitivitas Bakteri

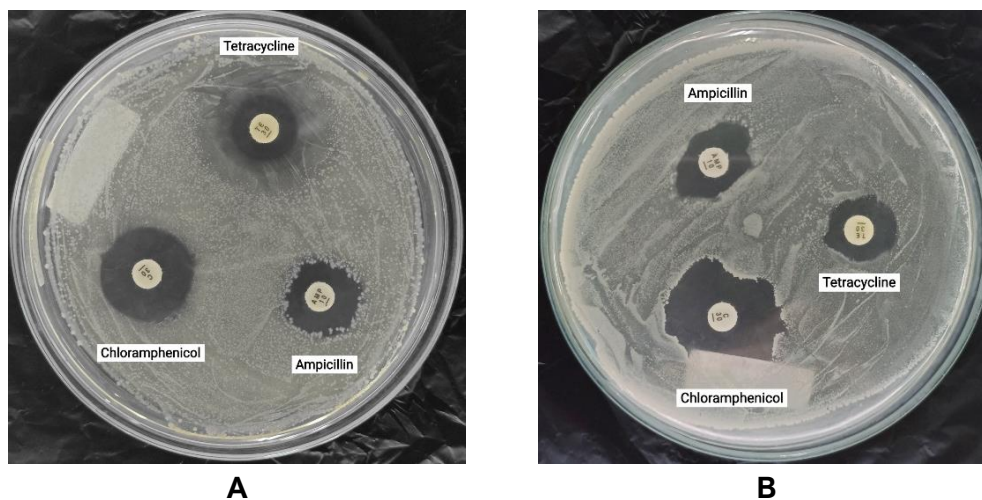
Uji sensitivitas bakteri adalah suatu uji untuk melihat tingkat kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik dan untuk melihat efektivitas suatu antibakteri dalam membunuh bakteri tertentu (Waluyo, 2009). Dalam penelitian ini, uji sensitivitas kedua bakteri baik bakteri *Pseudomonas aeruginosa* maupun *Bacillus subtilis* menggunakan disk antibiotik tetrasiklin 30 µg, kloramfenikol 30 µg, dan ampisilin 10 µg (Oxoid™). Uji sensitivitas diamati dengan

membandingkan besar diameter zona hambat dari ketiga antibiotik tersebut. Hasil diameter zona hambat terbesar akan digunakan sebagai kontrol positif pada uji aktivitas antibakteri.

Tabel 2. Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*

Antibiotik	Rata-rata diameter zona hambat (mm) ± SD	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Tetrasiklin 30 µg	13,2 ± 0,62	14,2 ± 1,03
Ampisilin 10 µg	15,4 ± 0,66	17,9 ± 2,63
Kloramfenikol 30 µg	20,0 ± 0,35	25,4 ± 1,12

Keterangan : Diameter zona hambat sudah termasuk diameter disk 6 mm.



Gambar 1. Hasil uji sensitivitas antibiotik, (A) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, (B) terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

Hasil uji sensitivitas pada Tabel 2, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan diameter zona hambat terbesar pada antibiotik kloramfenikol 30 µg, yaitu sebesar 20 mm. Pada bakteri *Bacillus subtilis* menunjukkan bahwa diameter zona hambat terbesar ada pada antibiotik kloramfenikol 30 µg, yaitu sebesar 25,4 mm. Potensi antibakteri dinilai efektif jika diameter zona hambat yang dihasilkan lebih kurang 14-16 mm (Depkes RI, 1995). Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas terhadap beberapa kategori bakteri yang bekerja dengan cara berikatan dengan subunit 50S dari ribosom dan akan memblokir pengikatan asam amino oleh tRNA (Anggita *et al.*, 2022). Mekanisme kerja kloramfenikol adalah menghambat enzim peptidil transferase pada fase pemanjangan, sehingga akan merusak tahap sintesis protein pada bakteri (Mutschler, 1991). Berdasarkan hasil tersebut, antibiotik kloramfenikol 30 µg digunakan sebagai kontrol positif saat uji aktivitas antibakteri karena memiliki zona hambat terbesar.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Metode difusi disk dipilih dalam uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi lengkuas putih (*Alpinia galanga*). Pada metode difusi disk, media MHA diinokulasi dengan bakteri uji dan diletakkan disk yang mengandung sampel uji pada konsentrasi yang berbeda. Prinsip difusi disk adalah sampel uji akan berdifusi ke dalam agar dan akan menghambat pertumbuhan suatu bakteri yang ditandai dengan adanya zona bening pada sekitar disk (Balouri *et al.*, 2016).

Dalam penelitian ini, uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol menggunakan konsentrasi 10,5 mg/disk, 12 mg/disk, 13,5 mg/disk, dan 15 mg/disk dengan penggunaan ekstrak sebanyak 15 µL tiap disk, sedangkan uji aktivitas antibakteri fraksi menggunakan fraksi metanol 80%, fraksi etil asetat, dan fraksi kloroform. Seri konsentrasi ekstrak dibuat menggunakan pelarut DMSO. Pelarut DMSO dipilih karena mampu melarutkan hampir semua golongan senyawa polar maupun non polar (Huda *et al.*, 2019). Kontrol negatif menggunakan DMSO dan positif untuk pengujian pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* adalah kloramfenikol 30 µg yang didapat dari hasil zona hambat terbesar pada uji sensitivitas sebelumnya. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif karena DMSO tidak punya aktivitas antibakteri sehingga bisa dipastikan bahwa aktivitas antibakteri berasal dari senyawa potensial dari ekstrak dan fraksi lengkuas putih (Huda *et al.*, 2019). Kontrol positif digunakan untuk memastikan penelitian yang dilakukan sudah benar atau tidak dan memastikan bakteri uji masih sensitif atau tidak (Noor *et al.*, 2020).

Adanya aktivitas antibiotik ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening atau zona hambat disekitar kertas cakram pada media (Utomo *et al.*, 2018). Diameter zona hambat diukur menggunakan penggaris dan dihitung rata-rata diameternya. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi rimpang *Alpinia galanga* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada Tabel 3, Gambar 2, dan Gambar 3.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi lengkuas putih (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*

9,5	Rata-rata diameter zona hambat (mm) ± SD										
	Konsentrasi ekstrak (mg/disk)					Konsentrasi fraksi (mg/disk)					
	10,5	12	13,5	15	K +	K -	K 15	EA 15	M 15	K +	K -
<i>P. aeruginosa</i>	8,7 ± 0,24	10,3 ± 0,47	12,0 ± 0,41	13,5 ± 0,41	20,8 ± 0,12	6,0 ± 0,0	8,8 ± 0,62	12,0 ± 0,41	7,8 ± 0,47	21,2 ± 0,85	6,0 ± 0,0
<i>B. subtilis</i>	11,0 ± 0,41	12,4 ± 0,42	14,0 ± 0,41	16,0 ± 0,41	25,5 ± 0,71	6,0 ± 0,0	10,3 ± 0,74	13,7 ± 0,24	7,8 ± 0,24	25,4 ± 0,42	6,0 ± 0,0

Keterangan :

Diameter zona hambat sudah termasuk diameter disk 6 mm

K+ = Kloramfenikol 30 µg

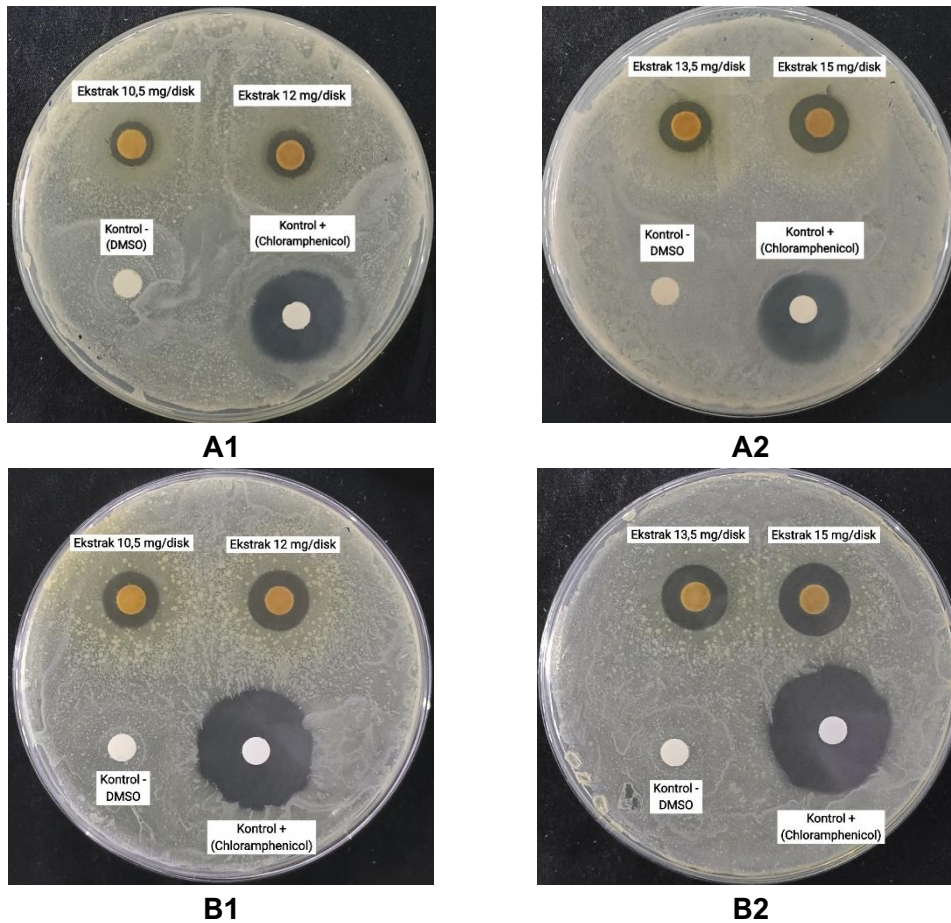
K- = DMSO

K = fraksi Kloroform

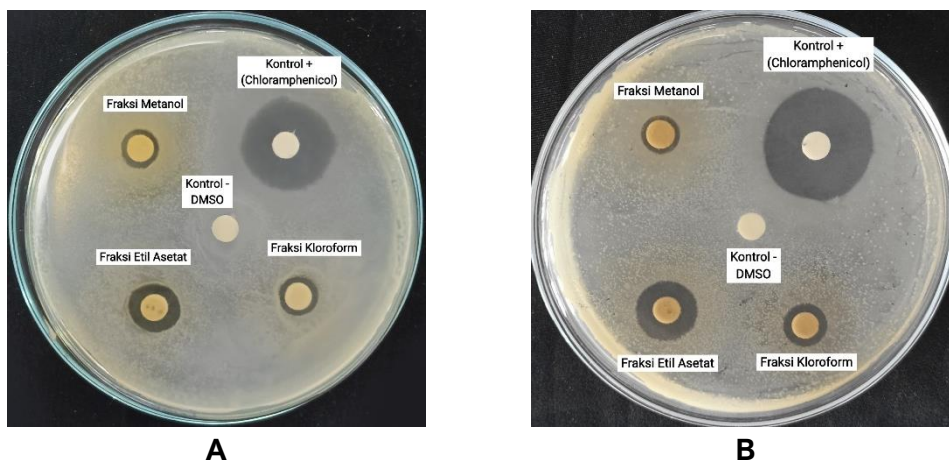
EA = fraksi Etil Asetat

M = fraksi Metanol 80%

Berdasarkan hasil pengamatan dari Tabel 3, uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol lengkuas putih (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 15 mg/disk sebesar 13,5 ± 0,41 mm, sedangkan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* menghasilkan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 15 mg/disk sebesar 16,0 ± 0,41 mm. Besar kecilnya konsentrasi ekstrak lengkuas berpengaruh terhadap zona hambat yang dihasilkan. Semakin besar konsentrasi rimpang *Alpinia galanga* yang diujikan maka diameter zona hambat yang dihasilkan semakin besar pula, sebab semakin banyaknya jumlah senyawa yang terkandung pada konsentrasi yang besar. Hal ini sesuai dengan penelitian Hasan *et al.* (2019), semakin besar konsentrasi ekstrak etanol lengkuas putih yang diujikan menghasilkan zona hambat yang semakin besar.



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol 70% lengkuas putih (*Alpinia galanga*), (A1-A2) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, (B1-B2) terhadap *Bacillus subtilis*



Gambar 3. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi lengkuas putih (*Alpinia galanga*), (A) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, (B) terhadap *Bacillus subtilis*

Uji statistik aktivitas ekstrak dan fraksi lengkuas putih (*Alpinia galanga*) dianalisis menggunakan program SPSS versi 26. Pada hasil uji ekstrak metanol terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi 0,059 yang artinya data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas didapat dengan nilai signifikansi 0,118 yang artinya data terdistribusi homogen ($p > 0,05$). Hasil menunjukkan data homogen, maka

dilanjutkan dengan ANOVA *one way test*. Berdasarkan hasil uji ANOVA *one way* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak metanol lengkuas putih terhadap zona hambat. Pada bakteri *Bacillus subtilis*, uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi 0,053 yang artinya data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas didapat dengan nilai signifikansi 0,104 yang artinya data terdistribusi homogen ($p > 0,05$). Hasil menunjukkan data homogen, maka dilanjutkan dengan ANOVA *one way test*. Berdasarkan hasil uji ANOVA *one way* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak metanol lengkuas putih terhadap zona hambat.

Berdasarkan hasil pengamatan dari Tabel 3, uji aktivitas antibakteri fraksi lengkuas putih (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan diameter zona hambat terbesar pada fraksi etil asetat sebesar $11,0 \pm 0,2$ mm, sedangkan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* menghasilkan diameter zona hambat terbesar pada fraksi etil asetat sebesar $13,5 \pm 0,2$. Hal ini menunjukkan bahwa golongan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri terbesar adalah golongan senyawa semi polar, sebab etil asetat akan menarik golongan senyawa yang bersifat semipolar. Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Allu dan Nuryanti (2022) menyatakan bahwa kandungan senyawa aktif paling banyak terdapat pada ekstrak etil asetat (semi polar) sehingga potensi antibakteri pada fraksi etil asetat lebih besar. Hasil penelitian tersebut menunjukkan ekstrak heksan (non polar) hanya mengandung alkaloid, ekstrak metanol (polar) hanya mengandung flavonoid, sedangkan ekstrak etil asetat (semi polar) mengandung alkaloid, flavonoid, dan steroid. Kusriani dan Shofia (2015) juga melaporkan bahwa diantara ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol dari lengkuas putih yang memiliki kadar fenolik tertinggi adalah ekstrak etil asetat. Fenolik merupakan salah satu senyawa yang mampu berperan sebagai antibakteri (Marina *et al.*, 2015).

Uji statistik fraksi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi 0,113 yang artinya data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas didapat dengan nilai signifikansi 0,074 yang artinya data terdistribusi homogen ($p > 0,05$). Hasil menunjukkan data homogen, maka dilanjutkan dengan ANOVA *one way test*. Berdasarkan hasil uji ANOVA *one way* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh perbedaan fraksi lengkuas putih terhadap zona hambat. Pada bakteri *Bacillus subtilis*, uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi 0,082 yang artinya data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas didapat dengan nilai signifikansi 0,02 yang artinya data tidak terdistribusi homogen ($p < 0,05$). Hasil menunjukkan data tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis. Berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis diperoleh nilai signifikansi 0,008 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh perbedaan fraksi lengkuas putih terhadap zona hambat.

Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak dan fraksi rimpang *Alpinia galanga* menghasilkan zona hambat yang lebih besar pada bakteri *Bacillus subtilis* (Gram positif) dibanding pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negatif) karena dinding sel bakteri Gram positif dan negatif berbeda dalam susunan kimianya. Susunan dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibanding bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram positif hanya tersusun atas lapisan peptidoglikan yang relatif tebal, sedangkan bakteri Gram negatif tersusun atas tiga lapisan, yaitu lipopolisakarida dan protein (lapisan luar) dan peptidoglikan (lapisan dalam) sehingga senyawa antibakteri lebih sulit untuk menembus dinding sel bakteri Gram negatif (Pelczar, 2015; Husna, 2016).

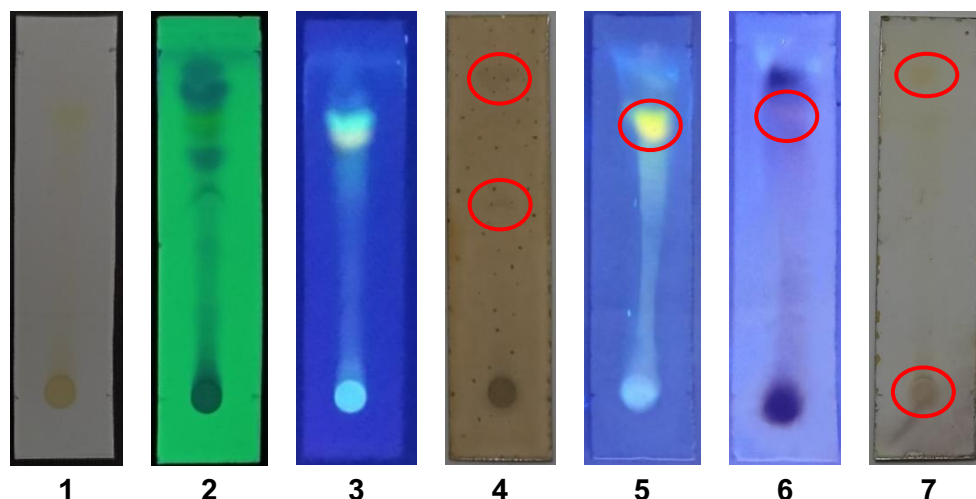
Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia adalah uji untuk mengetahui senyawa bioaktif yang belum diketahui melalui suatu tes yang bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa pada suatu tanaman yang diteliti (Saragih and Arsita, 2019). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah salah satu teknik kromatografi yang berguna untuk memisahkan senyawa organik menjadi senyawa-senyawa individualnya dengan kelebihan teknik pengoperasian yang mudah, sederhana, murah, dan waktu analisis yang singkat (Rosamah, 2019). Saat uji KLT perlu dilakukan penjenuhan *chamber* dengan kertas saring bertujuan untuk menyamakan tekanan uap agar saat pengelusan dapat terjadi pemisahan dengan baik (Trimulyani *et al.*, 2019). Sebelum pengujian perlu dilakukan optimasi fase gerak agar hasil pemisahan senyawa dapat optimal. Hasil optimasi fase gerak untuk plat ekstrak metanol adalah kloroform : etil asetat (1:1 v/v), sedangkan untuk plat fraksi etil asetat adalah kloroform : metanol (9:3 v/v). Fase diam yang digunakan yaitu plat silika gel GF₂₅₄.

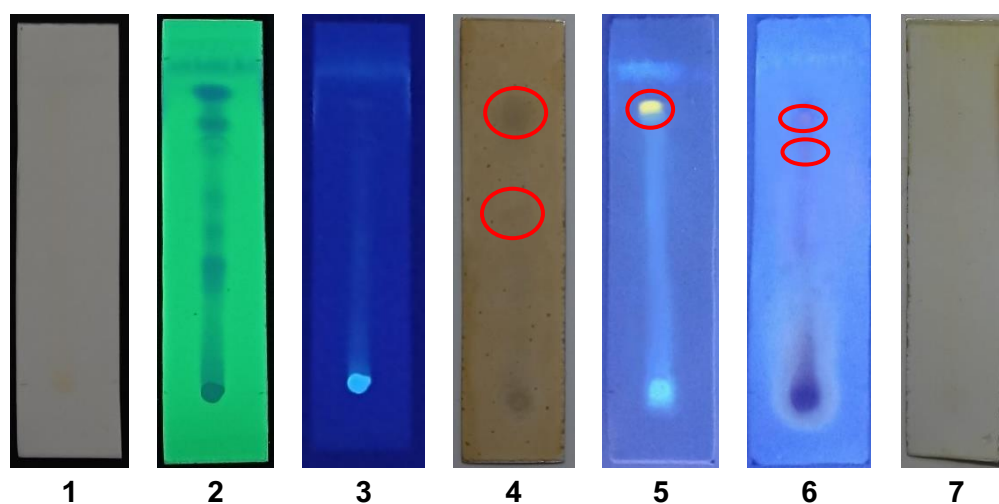
Tabel 4. Hasil uji fitokimia pada plat KLT ekstrak metanol dan fraksi etil asetat lengkuas putih (*Alpinia galanga*)

Plat	Reagen semprot	Rf	Visualisasi	Warna / fluoresensi	Keterangan	
Ekstrak metanol 70% 15 mg/disk	FeCl ₃	0,56	Sinar tampak	Kehitaman	(+) Fenolik	
		0,94				
	Sitroborat Liebermann-Burchard	0,8	UV 366	Kuning kehijauan	(+) Flavonoid	
		0,84				
Dragendorff		0,96	Sinar tampak	Jingga	(+) Alkaloid	
Fraksi etil asetat 15 mg/disk	FeCl ₃	0,56	Sinar tampak	Kehitaman	(+) Fenolik	
		0,88				
	Sitroborat Liebermann-Burchard	0,82	UV 366	Kuning kehijauan	(+) Flavonoid	
		0,7				
	Dragendorff		0,84	UV 366	Merah atau merah muda	(+) Terpenoid
			-			
			Sinar tampak	Tidak coklat jingga	(-) Alkaloid	

Senyawa alkaloid dideteksi dengan reagen semprot Dragendorff akan menghasilkan bercak berwarna coklat jingga berlatar belakang kuning pada sinar tampak (Harborne, 1987). Ekstrak metanol positif mengandung alkaloid karena menghasilkan bercak berwarna jingga dengan nilai Rf sebesar 0,96, sedangkan fraksi etil asetat tidak mengandung alkaloid karena tidak muncul bercak berwarna coklat jingga. Pada plat ekstrak metanol, bercak dari hasil elusi berwarna tipis atau tidak tegas berwarna coklat jingga sehingga kemungkinan kadar alkaloid pada Rf tersebut kecil. Namun pada bercak tolotan ekstrak menghasilkan warna yang tegas atau berwarna coklat jingga berlatar belakang kuning sehingga kemungkinan kadar alkaloid masih banyak yang belum terelusi oleh fase gerak. Oleh karena itu, perlu dilakukan optimasi fase gerak kembali agar bercak dari hasil elusi berwarna lebih tegas. Senyawa fenolik dideteksi dengan reagen semprot FeCl₃ akan menghasilkan bercak berwarna hitam, biru, hijau, ungu, atau merah pada sinar tampak (Harborne, 1987). Ekstrak metanol dan fraksi etil asetat positif mengandung fenolik karena menghasilkan bercak berwarna kehitaman dengan nilai Rf ekstrak sebesar 0,56 dan 0,94; serta nilai Rf fraksi sebesar 0,56 dan 0,88. Senyawa terpenoid dideteksi dengan reagen semprot Liebermann-Burchard untuk mendeteksi terpenoid akan menghasilkan bercak berwarna merah atau merah muda pada UV 366 nm (Ambarwati *et al.*, 2015).



Gambar 4. Hasil uji fitokimia pada plat KLT ekstrak metanol lengkuas putih (*Alpinia galanga*), (1) Hasil elusi KLT pada sinar tampak sebelum disemprot, (2) Hasil elusi KLT pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot, (3) Hasil elusi KLT pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot, (4) Hasil semprot reagen FeCl_3 pada sinar tampak, (5) Hasil semprot reagen sitroborat pada UV 366 nm, (6) Hasil semprot reagen Liebermann-Burchard pada UV 366 nm, (7) Hasil semprot reagen Dragendorff pada sinar tampak.



Gambar 5. Hasil uji fitokimia pada plat KLT fraksi etil asetat lengkuas putih (*Alpinia galanga*), (1) Hasil elusi KLT pada sinar tampak sebelum disemprot, (2) Hasil elusi KLT pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot, (3) Hasil elusi KLT pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot, (4) Hasil semprot reagen FeCl_3 pada sinar tampak, (5) Hasil semprot reagen sitroborat pada UV 366 nm, (6) Hasil semprot reagen Liebermann-Burchard pada UV 366 nm, (7) Hasil semprot reagen Dragendorff pada sinar tampak.

Ekstrak metanol dan fraksi etil asetat positif mengandung terpenoid karena menghasilkan bercak berwarna merah atau merah muda dengan nilai Rf ekstrak sebesar 0,84 dan Rf fraksi sebesar 0,84 dan 0,7. Senyawa flavonoid dideteksi dengan reagen semprot sitroborat akan menghasilkan bercak berwarna kuning kehijauan pada UV 366 nm (Lestari and Santoso, 2021). Ekstrak metanol dan fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid karena menghasilkan bercak berwarna kuning kehijauan dengan nilai Rf ekstrak dan fraksi berturut-turut sebesar 0,8 dan 0,82.

Hasil penelitian uji fitokimia rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) selaras dengan penelitian Anggreine dan Heryani (2015) bahwa ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, ekstrak

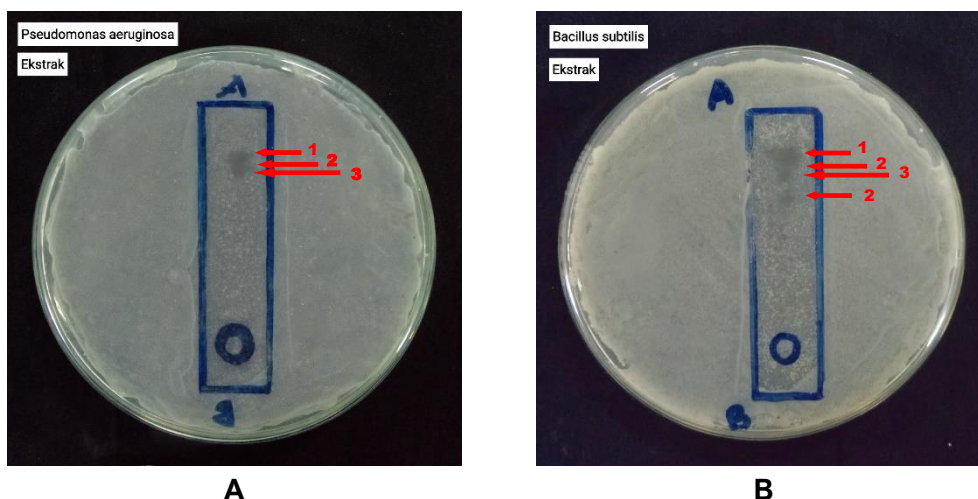
aquadest, dan ekstrak aseton dari rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) positif mengandung terpenoid, alkaloid, saponin, fenolik, dan flavonoid. Pada penelitian uji fitokimia oleh Kusriani dan Shofia (2015) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol dari rimpang lengkuas putih mengandung steroid/triterpenoid, flavonoid, kuinon, dan tanin. Hasil penelitian lain oleh Cahyaningrum *et al.* (2023) menyatakan bahwa ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga* (L) Willd) mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, fenolik, saponin, tanin, flavonoid dan terpenoid.

Hasil Uji Bioautografi

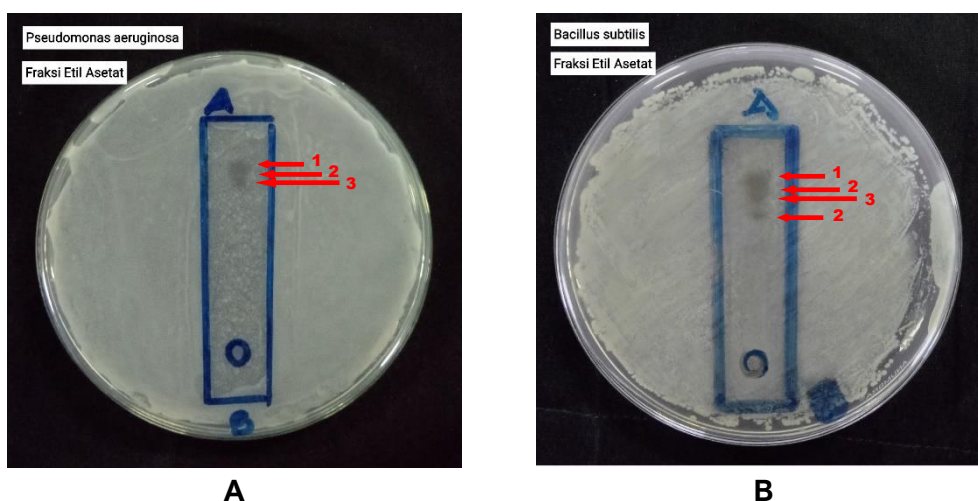
Bioautografi adalah uji untuk mengetahui golongan senyawa kimia tertentu yang dapat berperan sebagai antibakteri pada rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*). Metode kontak digunakan dalam uji KLT-Bioautografi ini, yaitu metode dengan menempelkan plat KLT di atas media yang sudah diinokulasikan dengan suatu bakteri uji (Paputungan *et al.*, 2019). Hasil uji dilakukan dengan mengamati zona hambat yang terbentuk pada daerah plat KLT (Gambar 6 dan Gambar 7).

Tabel 5. Hasil uji KLT-Bioautografi ekstrak metanol dan fraksi etil asetat lengkuas putih (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri *Bacillus subtilis*

Bakteri	Sampel	Rf	Keterangan
<i>Bacillus subtilis</i>	Ekstrak	0.91	diduga senyawa Fenolik mampu sebagai antibakteri
		0.8	diduga senyawa Flavonoid mampu sebagai antibakteri
		0.84	diduga senyawa Terpenoid mampu sebagai antibakteri
		0.72	diduga senyawa Terpenoid mampu sebagai antibakteri
	Fraksi	0.88	diduga senyawa Fenolik mampu sebagai antibakteri
		0.82	diduga senyawa Flavonoid mampu sebagai antibakteri
		0.84	diduga senyawa Terpenoid mampu sebagai antibakteri
		0.7	diduga senyawa Terpenoid mampu sebagai antibakteri
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ekstrak	0.89	diduga senyawa Fenolik mampu sebagai antibakteri
		0.81	diduga senyawa Flavonoid mampu sebagai antibakteri
		0.84	diduga senyawa Terpenoid mampu sebagai antibakteri
	Fraksi	0.89	diduga senyawa Fenolik mampu sebagai antibakteri
		0.82	diduga senyawa Flavonoid mampu sebagai antibakteri
		0.84	diduga senyawa Terpenoid mampu sebagai antibakteri



Gambar 6. Hasil uji KLT-Bioautografi ekstrak metanol lengkuas putih (*Alpinia galanga*), (A) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, (B) terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Keterangan : 1 = Fenolik, 2 = Terpenoid, 3 = Flavonoid.



Gambar 7. Hasil uji KLT-Bioautografi fraksi etil asetat lengkuas putih (*Alpinia galanga*), (A) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, (B) terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Keterangan : 1 = Fenolik, 2 = Terpenoid, 3 = Flavonoid.

Berdasarkan Tabel 5, ekstrak metanol dan fraksi etil asetat lengkuas putih (*Alpinia galanga*) menunjukkan hasil Rf zona hambat pada kisaran nilai Rf golongan senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid, sehingga dapat dikatakan bahwa fenolik, flavonoid, dan terpenoid adalah golongan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Flavonoid pada tanaman berperan melindungi tanaman dari tekanan dan faktor lingkungan yang berbeda dan berperan dalam pembentukan warna dan aroma, serta dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antikanker, dan antidiare (Trimanto *et al.*, 2021). Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan dapat mendenaturasi protein yang menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti, sehingga mampu berperan sebagai antibakteri (Marina *et al.*, 2015). Terpenoid merupakan golongan senyawa dalam tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan yang disebut minyak atsiri (Minarno, 2015). Fenolik merupakan golongan senyawa di dalam tumbuhan dan mudah larut dalam air, serta berfungsi dalam membantu penyerbukan, sebagai pertahanan terhadap serangan dan

racun (Minarno, 2015). Mekanisme antibakteri golongan senyawa fenolik dan terpenoid adalah merusak struktur dinding sel, mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton di dalam membran sitoplasma bakteri (Bota *et al.*, 2015).

Hasil uji fitokimia pada penelitian Anggreine dan Heryani (2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, ekstrak aquadest, dan ekstrak aseton dari rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) positif mengandung terpenoid, alkaloid, saponin, fenolik, dan flavonoid. Diantara beberapa golongan senyawa tersebut, golongan senyawa terpenoid, saponin, dan flavonoid bersifat antifungal yang bersifat lipofilik sehingga senyawa tersebut diduga mampu sebagai antibakteri. Dalam penelitian ini terbukti bahwa metabolit sekunder golongan fenolik, flavonoid, dan terpenoid bersifat antibakteri karena menghasilkan zona hambat pada uji bioautografi.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol 70% konsentrasi 15 mg/disk dan fraksi etil 15 mg/disk asetat rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) memiliki potensi sebagai antibakteri terbukti dari terbentuknya zona hambat yang paling besar pada uji aktivitas antibakteri. Hasil uji fitokimia rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) menunjukkan ekstrak metanol positif mengandung golongan senyawa terpenoid, fenolik, flavonoid, dan alkaloid, sedangkan hasil pada fraksi etil asetat rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) hanya positif mengandung golongan senyawa terpenoid, fenol, dan flavonoid. Golongan senyawa yang mampu berperan sebagai agen antibakteri untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri *Bacillus subtilis* adalah fenolik, flavonoid, dan terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Snafi A.I, 2014, The Pharmacological Activities of *Alpinia galanga*-A Review, *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*, 3(1-1), 607-614.
- Allu Y.A. and Nuryanti S., 2022, Uji Daya Hambat Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Media Eksakta*, 18(2), 143-149.
- Ambarwati N., Rakhmawati R. and Wahyuni D.S.C., 2015, Uji toksisitas fraksi daun ambre (*Geranium radula*) terhadap *Artemia salina* dan profil kandungan kimia fraksi teraktif, *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 13(1), 15-24.
- Amelia R., Sudarso and Dwi Hartanti, 2010, Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*, *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 7(03).
- Anggita D., Nurisyah S. and Wiriansya E.P., 2022, Mekanisme Kerja Antibiotik, *UMI Medical Journal*, 7(1), 46-58.
- Anggreine H. and Heryani H., 2015, Potensi Buah Tanaman Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* L.) sebagai Bahan Obat Topikal Terhadap Penyakit Panu. *Prosiding Seminar Nasional FKPTPI 2015*.
- Azzahra F., Wiastuti A. and Rusmadi R., 2023, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat dan n-Heksan Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research*, 1(1), 39-50.
- Azizah M., Lara S.L. and Yopi R., 2020, Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Madu Hutan Terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Penyakit Kulit, *Jurnal Penelitian Sains*, 22(1), 37-44.
- Balouiri M., Moulay Sadiki and Saad Koraichi Ibsouda, 2016, Review Paper : Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(02), 71-79.
- Bota W., Martosupono M. and Rondonuwu F.S., 2015, Potensi senyawa minyak sereh wangi (*Citronella*

- oil) dari tumbuhan *Cymbopogon nardus* L. sebagai agen antibakteri, *Prosiding Semnastek*.
- Cahyaningrum G.S., Slamet S., Wirasti W. and Pambudi D.B., 2023, Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd) Terhadap Jamur *Candida albicans* Dengan Metode Sumuran, In *Prosiding University Research Colloquium*, 677-683.
- Chuang Chih-Hsien, Rajendra P.J., Yi-Hsin W., Hsin-Ju C., Yhu-Chering H., Tzou-Yien L., and Cheng-Hsun C., 2017, *Pseudomonas aeruginosa*-associated Diarrheal Diseases in Children, *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(12), 1119-1123.
- Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI, 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI, 2020, *Farmakope Indonesia Edisi VI*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- El Jannah S.M., Imas L. and Zuraida Z., 2020, Uji Daya Bunuh Ekstrak Daun *Acacia nilotica* L. terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus epidermidis*, *Anakes: Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 6(1), 91-102.
- Handoyo D.L.Y., 2020, Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*), *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34-41.
- Harborne J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*, ITB Press, Bandung.
- Hasan P.H., Fatimawali, and Bodhi W., 2019, Uji Daya Hambat Ekstrak Rimpang Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* L. Swartz) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Sputum pada Penderita Pneumonia Resisten Antibiotik Seftriakson, *Pharmacon*, 8(1), 22-29.
- Huda C., Putri A.E. and Sari D.W., 2019, Uji aktivitas antibakteri fraksi dari maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli*, *Jurnal Sain Health*, 3(1), 7-14.
- Husna F.A., 2016. Uji aktifitas antibakteri ekstrak metanol ental muda *Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro, *Skripsi*, Universitas Negeri Malang, Malang.
- Joegijiantoro R., 2019, *Penyakit infeksi.*, Intimedia, Malang.
- Karsinah, Moehario L.H., Suharto and Mardiatuti H.W., 1994, Batang Negatif Gram, Dalam Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, eds., *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*, Binarupa Aksara Publisher, Jakarta, p. 212-124.
- Khusnul and R. Suhartati, 2018, Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Karuk (*Piper sarmentosum* Roxb) dan Rimpang Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* L) terhadap Pertumbuhan Jamur Penyebab Ketombe secara In Vitro, *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 18(2).
- Kurniawan E., Dwi S.D.J. and Lalu Z., 2019, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(1), 61-69.
- Kusriani R.H. and Shofia Az Zahra., 2015, Skrining fitokimia dan penetapan kadar senyawa fenolik total ekstrak rimpang lengkuas merah dan rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga* L.), *Prosiding SNaPP: Kesehatan (Kedokteran, Kebidanan, Keperawatan, Farmasi, Psikologi)*, 1(1), 295-302.
- Lestari, S.I. and Santoso, B., 2021. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas (PRB) Ekstrak Etanol Lempuyang Emprit (*Zingiber americans*) Hasil Maserasi Sekali dan Maserasi, *Biomedika*, 13(1), 76-82.
- Luntungan B.M., Defny S.W. and Erladys R., 2021, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Spons *Mycale vansoesti* dari Perairan Pulau Mantehage Minahasa Utara terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Pharmacon*, 10(2), 889-896.
- Malik T., Pandey D.K., Roy P. and Okram A., 2016, Evaluation of phytochemicals, antioxidant, antibacterial and antidiabetic potential of *Alpinia galanga* and *Eryngium foetidum* plants of Manipur (India), *Pharmacognosy Journal*, 8(5).

- Marina E., Manurung H. and Nugroho R.A., 2015, Uji fitokimia dan antibakteri ekstrak etanol daun balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, In *Prosiding Seminar Sains dan Teknologi FMIPA Unmul*, 1(1).
- Minarno E.B., 2015, Skrining fitokimia dan kandungan total flavanoid pada buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch di kawasan Bromo, Cangar, dan dataran tinggi Dieng, *El-Hayah*, 5(2), 73-82.
- Muniandy P., Paramasivam M., Chear N.J.Y., Singh D. and Kernain D., 2019, A study of antibacterial efficacy of *Alpinia galanga* extracts against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Listeria monocytogenes*, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(8), 3061-3066.
- Mutschler E., 1991, *Dinamika Obat Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi, Edisi Ke 5*, Penerbit ITB, Bandung.
- Nobiola R.K., Tusy T., Nia T. and Efrida W., 2020, Uji Sensitivitas Kunyit Kuning dan Kunyit Putih terhadap Bakteri Pencemar Susu, *ARTERI: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 1(4), 263-269.
- Noor A.S., Triatmoko B. and Nuri N., 2020, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap *Salmonella typhi*, *Pustaka Kesehatan*, 8(3), 177-182.
- Nofita A.D., 2020, Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Bawang Merah (*Allium cepa* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam Media Mueller Hinton Agar (MHA), *Media Informasi*, 16(1), 1-7.
- Nugroho A., 2017, *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*, Lambung Mangkurat University Press, Banjarmasin.
- Nurhayati L.S., Nadhira Y. and Akhmad H., 2020, Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram, *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- Nurwaini S. and Savitri A.I., 2020, Formulasi Sediaan Gel Antiseptik Tangan Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.), In *Prosiding University Research Colloquium*, 95-105.
- Paputungan A.N., Widya A.L. and Imam J., 2019, Aktivitas Antibakteri dan Analisis KLT-Bioautografi Dari Fraksi Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.), *PHARMACON*, 8(3), 525-534.
- Pelczar Jr. M.J. and Chan E.C.S., 2015, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Prihannensia M., Winarsih S. and Achma, A., 2018, Uji Aktivitas Sediaan Gel Dan Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Secara In Vitro, *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 4(1), 23-28.
- Rahim A., Lintong M., Suharto and Josodiwondo S., 1994, Batang Positif Gram, Dalam Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, eds., *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*, Binarupa Aksara Publisher, Jakarta, p. 152.
- Riwanti P., Rina A. and Lia T., 2021, Uji Aktivitas Antibakteri *Sargassum polycystum* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *J. Pharm. Sci*, 6, 19-23.
- Rosamah E., 2019, *Kromatografi Lapis Tipis: Metode Sederhana dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu*, Mulawarman University Press, Samarinda.
- Ruhimat U., Rohimah S. and Kurniawan R., 2022, Identifikasi Bakteri Potensial Penyebab Healthcare Associated Infections (HAIs) di Ruang ICU (Intensive Care Unit) RSUD. Kabupaten Ciamis, *Healthcare Nursing Journal*, 4(2), 358-362.
- Saputra T.R., Ngatin A. and Sarungu Y.T., 2018, Penggunaan metode ekstraksi maserasi dan partisi pada tumbuhan cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan kepolaran berbeda, *Fullerene Journal of Chemistry*, 3(1), 5-8.
- Saragih D.E. and Arsita E.V., 2019, Kandungan fitokimia *Zanthoxylum acanthopodium* dan potensinya sebagai tanaman obat di wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara, In *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 5(1), 71-76.

- Silap G.E., Wewengkang D. and Rotinsulu H., 2020, Uji Aktivitas Antimikroba Karang Lunak *Dendronephtya Sp.*, Yang Dikoleksi Dari Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen, Kabupaten Minahasa Tenggara Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Dan *Candida Albicans*, *PHARMACON*, 9(1), 63-72.
- Sineke F.U., 2016, Penentuan kandungan fenolik dan sun protection factor (SPF) dari ekstrak etanol dari beberapa tongkol jagung (*Zea mays L.*), *Pharmacoon*, 5(1).
- Sulistiyani N. and Narwanti I.I.N., 2017, Aktivitas Cairan Kultur Bakteri Penghasil Antibiotik (Isolat P301) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2), 181-186.
- Tias R.R.A. and Kamaratih D.A., 2022, Perbandingan Daya Anti Bakteri Sodium Fluoride Dengan Acidulated Phosphate Fluoride Terhadap Jumlah Koloni *Streptococcus mutans*, *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya*, 3(2), 123-131.
- Torar G.M., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, *PHARMACON*, 6(2).
- Trimanto T., Lia H. and Dini D., 2021, *Alpinia galanga* (L.) Willd: Plant Morphological Characteristic, Histochemical Analysis and Review on Pharmacological, *AIP Conference Proceedings*, 2353(1), 030021.
- Trimulyani Y.W., 2019, Fraksi Etanol, Kloroform, dan N-Heksan Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata L.*) Sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Bioautografi, *JFL: Jurnal Farmasi Lampung*, 8(2), 111-122.
- Tungmunnithum D., Nobuyuki T., Ayumi U. and Tsukasa I., 2020, Flavonoids Profile, Taxonomic Data, History of Cosmetic Uses, Anti-Oxidant and Anti-Aging Potential of *Alpinia galanga* (L.) Willd, *Cosmetics*, 7(4), 89.
- Utomo S.B., Fujiyanti M., Lestari W.P. and Mulyani S., 2018, Uji aktivitas antibakteri senyawa c-4-metoksifenilkaliks resorsinarena termodifikasi hexadecyltrimethylammonium-bromide terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 3(3), 109-209.
- Waluyo L., 2009, *Mikrobiologi Lingkungan*, UMM Press, Malang.
- Widiastuti R., Nurhaeni F., Marfuah D.L. and Wibowo G.S., 2017, Potensi Antibakteri Dan Anticandida Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb.), *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*, 1.
- Widodo D. and Irwanto R., 2014, Infeksi Nosokomia, Dalam Setiati S., Alwi I., Sudoyo A.W., Stiyohadi B. and Syam A.F., eds., *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi VI Jilid I*, Interna Publishing, Jakarta, p. 682.
- World Health Organization, 2002. *Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide 2nd edition*, World Health Organization, Geneva.
- Yadnya-Putra A.A.G.R., Samirana P.O. and Andhini D.A.A., 2020, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid Potensial Antioksidan dari Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.), *Jurnal Farmasi Udayana*, 8(2), 90.