

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI RIMPANG LENGKUAS (*Alpinia galanga*) TERHADAP BAKTERI *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus* SERTA BIOAUTOGRAFINYA

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF RHIZOME EXTRACT AND FRACTION GALANGAL (*Alpinia galanga*) AGAINST BACTERIA *Shigella sonnei* and *Bacillus cereus* AND ITS BIOAUTOGRAPHY

Anita Puji Maharani¹, Cita Hanif Muflihah^{1*}

¹Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

*E-mail correspondence : chm641@ums.ac.id

Abstrak

Penggunaan antibiotik untuk diare, yang tidak tepat, mengakibatkan bakteri menjadi resisten. Selain antibiotik, terapi menggunakan obat alam dipakai untuk meredakan gejala diare. Salah satu bahan alam yang dikembangkan adalah lengkuas. Tujuan dari penelitian ini mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*. Rimpang tumbuhan lengkuas diekstraksi dengan metanol 70%, kemudian difraksinasi dengan metanol 80%, kloroform, dan etil asetat. Metode disk dipakai untuk pengujian antibakteri sedangkan skrining fitokimia dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) serta pengujian bioautografi untuk menentukan senyawa metabolit sekunder yang bertanggung jawab sebagai antibakteri. Uji antibakteri ekstrak menggunakan konsentrasi 30%, 40%, 50%, dan 60% (atau 4,5; 6; 7,5; dan 9 mg/disk), dan menggunakan konsentrasi 100% yang mengandung 15 mg/disk untuk pengujian antibakteri fraksi. Antibiotik ciprofloxacin dan pelarut DMSO menjadi kontrol positif dan negatif. Ekstrak lengkuas konsentrasi 60% (9 mg/disk), memiliki daya hambat terbesar dibandingkan dengan konsentrasi lain, dengan diameter daerah hambat pada bakteri *Shigella sonnei* sebesar $12,08 \pm 0,31$ mm, dan pada bakteri *Bacillus cereus* sebesar $12,50 \pm 0,41$ mm. Pada pengujian terhadap *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*, zona hambat yang dihasilkan fraksi kloroform lengkuas masing-masing berdiameter sebesar $16,17 \pm 0,47$ mm dan $11,67 \pm 0,24$ mm. Analisis fitokimia dengan KLT, menggunakan silika gel GF254 dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (5:5) dan n-heksan:etil asetat (6:4). Golongan senyawa flavonoid, alkaloid, dan terpenoid terkandung pada ekstrak rimpang lengkuas, sedangkan fraksi kloroform mengandung flavonoid, alkaloid, dan fenolik. Hasil bioautografi, flavonoid dan alkaloid terbukti menjadi golongan metabolit sekunder yang menghambat pertumbuhan *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*.

Kata Kunci: antibakteri, *Shigella sonnei*, bioautografi, *Alpinia galanga*, *Bacillus cereus*

Abstract

The use of antibiotics for the treatment of diarrhea, can result in the development of microorganisms that are resistant to antibiotics. Empirical therapy using natural medicine is also widely used to relieve symptoms of diarrhea. One of the natural materials to be developed is galangal. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of methanol extract and galangal rhizome fraction (*Alpinia galanga*) against *Shigella sonnei* and *Bacillus cereus*. The methanol extract and rhizome fraction of galangal (*Alpinia*

galanga) were evaluated for their antibacterial activity against *Shigella sonnei* and *Bacillus cereus*. The rhizome of the galangal plant was extracted with 70% methanol, then fractionated with 80% methanol, chloroform and ethyl acetate. The disk method was used to test the antibacterial, phytochemical screening with Thin Layer Chromatography (TLC) and bioautography testing to determine compounds responsible for being antibacterial. Antibacterial test by applying concentrations of 30%, 40%, 50%, and 60 (4.5; 6; 7.5; 9 mg/disc), and using a 100% concentration containing 15 mg/disc for testing the fraction. The antibiotic ciprofloxacin and DMSO solvent were used as positive and negative controls. Galangal extract with a concentration of 60% (9 mg/disc), has the greatest inhibitory power compared to other concentrations, with the diameter of the inhibitory area in *Shigella sonnei* bacteria being 12.08 ± 0.31 mm, and in *Bacillus cereus* bacteria being 12.50 ± 0.41 mm. The inhibition zones produced by the chloroform fraction of galangal were respectively 16.17 ± 0.47 mm and 11.67 ± 0.24 mm in diameter. Phytochemical analysis using silica gel GF254 and n-hexane: ethyl acetate (5:5) and n-hexane: ethyl acetate (6:4) as the mobile phase. The flavonoid, alkaloid and terpenoid compound were detected to be contained in galangal rhizome extract, while the chloroform fraction was detected to contain flavonoids, alkaloids and phenolics. In bioautography, flavonoids and alkaloids were proven to be a class of secondary metabolites that inhibit the growth of *Shigella sonnei* and *Bacillus cereus*, respectively.

Keywords: antibacterial, *Shigella sonnei*, bioautography, *Alpinia galanga*, *Bacillus*

PENDAHULUAN

Subdirektorat Diare Kementerian Kesehatan melakukan serangkaian survei mengenai angka kesakitan dan kematian akibat diare antara tahun 2000 dan 2010, dan menemukan adanya tren peningkatan. Diare juga masih menjadi sebab utama kematian anak balita di Indonesia berdasarkan data yang dikumpulkan setiap tahunnya dari Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT), Studi Kematian, dan Riset Kesehatan Dasar. Temuan terbaru dari Riset Kesehatan Dasar (2018), prevalensi diare di Indonesia adalah 8%, yang didiagnosis oleh tenaga medis profesional dan berdasarkan dari gejala pasien. Dari 34 provinsi di Indonesia, 16 provinsi mempunyai prevalensi lebih tinggi dari rata-rata nasional, Sulawesi Tengah menjadi provinsi tertinggi (10,3%) dan Kepulauan Riau menjadi provinsi terendah (4,3%) (Tim Riskesdas, 2018).

Diare terjadi apabila buang air besar encer melebihi tiga kali sehari (Tim Riskesdas, 2018). Infeksi seperti bakteri, virus, dan jamur merupakan sebab umum diare, namun bukan satu-satunya. Terdapat beberapa bakteri yang menyebabkan diare, diantaranya adalah *Salmonella* dan *Shigella* (Tresna *et al.*, 2020). Bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dapat juga menyebabkan penyakit diare (Rini *et al.*, 2018). Antibiotik merupakan terapi standar bagi diare yang disebabkan karena infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai resep dapat berakibat pada berkembangnya mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotik (Tresna *et al.*, 2020). Selain menggunakan antibiotik, terapi empiris menggunakan obat alam juga banyak dipakai untuk meredakan gejala diare. Selain murah dan faktor efek samping yang rendah, pemanfaatan bahan alam menjadi pengobatan penyakit juga dapat membantu melestarikan berbagai macam tumbuhan obat yang ada di alam sekitar (Nuraini dkk., 2021). Salah satu bahan alam yang potensial dikembangkan adalah lengkuas.

Lengkuas (*Alpinia galanga*) merupakan salah satu tumbuhan biofarmaka yang dimanfaatkan bagian rimpangnya (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2021). Secara farmakologis, ekstrak lengkuas memiliki manfaat sebagai anti jamur, anti kanker, antioksidan,

sitotoksik, karminatif, anti gatal, dan anti ulcer (Hernani *et al.*, 2007). Bagian rimpangnya biasa digunakan untuk penyedap makanan pada masakan tradisional. Lengkuas merupakan warisan budaya yang dipakai menjadi pengobatan berbagai penyakit. Hingga saat ini telah banyak penelitian untuk mengeksplorasi potensi farmakologis lengkuas (Trimanto *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas pada konsentrasi 100% menekan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat 25 mm (Sangadji *et al.*, 2021). Ekstrak air rimpang lengkuas pada konsentrasi 100% menekan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* (1,13 mm) dan *Escherichia coli* (0,8 mm). Berdasarkan hal tersebut, penelitian yang dijalankan ini bertujuan untuk mendapatkan pengetahuan potensi antibakteri dari ekstrak metanol dan fraksi metanol, kloroform, dan etil asetat rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus* beserta bioautografinya.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang dipakai antara lain timbangan analitik, bejana maserasi, rotary evaporator, waterbath, Laminar Air Flow (LAF), alat pengukur daerah hambat, autoklaf, inkubator, shaker incubator, hot plate, UV lamp 254 nm dan 366 nm, kertas perkamen, alat gelas, dan mikropipet.

Bahan

Bahan-bahan yang dipakai adalah rimpang lengkuas, bakteri *Shigella sonnei*, bakteri *Bacillus cereus*, metanol 70%, metanol 80%, Mueller Hinton Agar (MHA), Brain Heart Infusion (BHI), Mac Conkey Agar, dimetil sulfoksida (DMSO), kloroform, etil asetat, n heksan, reagen semprot Dragendorff, FeCl₃, Sitroborat, Liebermann-Burchard, natrium klorida, aquadest, standar *Mc. Farland*, blue tips, yellow tips, blank disc (Oxoid™), dan plat silika gel GF254.

Prosedur penelitian

Pengolahan sampel

Sampel rimpang lengkuas dibersihkan dengan air bersih yang mengalir hingga bersih tanpa ada sisa gumpalan tanah liat yang melekat. Setelah itu, kulit luar lengkuas dikupas bersih dan dicuci kembali. Kemudian rimpang lengkuas dipotong kecil dan dikeringkan pada almari pengering dengan suhu 50 °C selama kurang lebih 2-3 hari. Setelah kering, rimpang lengkuas diblender hingga menjadi serbuk lalu ditimbang.

Ekstraksi sampel

Serbuk rimpang lengkuas yang sudah ditimbang, dipakai untuk maserasi. Serbuk rimpang lengkuas dimaserasi dengan metanol 70% selama 3×24 jam, lalu diremaserasi (Permatasari, 2022). Remaserasi menggunakan serbuk rimpang lengkuas hasil penyaringan maserasi yang pertama. Setelah itu, hasil remaserasi tersebut disaring. Filtrat yang telah siap diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga tidak ada lagi pelarut yang tersisa (Mursyida and Alfiole, 2020). Kemudian dibuat ekstrak pekat dengan cara dipanaskan dalam penangas air (waterbath) dengan suhu 40 °C. Rumus berikut dipakai untuk menentukan rendemen bahan yang diekstraksi (Fauzi *et al.*, 2017):

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

Fraksinasi

Ekstrak lengkuas difraksinasi dengan kombinasi dua pelarut. Ke dalam corong pisah dimasukkan 10 gram ekstrak lengkuas pekat (hasil maserasi) yang dilarutkan dalam 50 mL metanol 80%. Setelah itu, 50 mL kloroform ditambahkan ke dalam corong pisah dan dikocok kuat-kuat hingga ekstrak benar-benar larut. Dua lapisan yang terbentuk dipisahkan. Etil asetat 50 mL ditambahkan ke fraksi metanol, dan dua lapisan dipisahkan. Fraksinasi dilakukan satu kali. Hasil fraksinasi ketiga pelarut dikentalkan melalui penguapan di penangas air (Permatasari, 2022) pada suhu 40 °C sampai kental. Berikut rumus yang dapat dipakai untuk menentukan hasil fraksi (Fauzi *et al.*, 2017):

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

Sterilisasi alat

Alat dan bahan yang dipakai, disterilisasi dengan oven dan autoklaf. Alat-alat yang akan dipakai disterilkan di oven dengan suhu 160 °C selama 45 menit. Bahan-bahan seperti media disterilkan di autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15-20 menit (Wulandari *et al.*, 2022).

Pembuatan media

Bahan untuk media meliputi MHA (*Mueller Hinton Agar*), BHI (*Brain Heart Infusion*), dan *Mac Conkey* yang dibuat masing-masing sebanyak 38,0; 37,0; dan 49,53 gram dalam 1000 mL aquadest dan dimasukkan dalam wadah lalu diaduk hingga larut. Setelah itu, media disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian, media MHA dan *Mac Conkey* dituang secara aseptis pada cawan petri dan disimpan (Permatasari, 2022).

Uji sensitivitas terhadap antibiotik

Sebanyak 0,2 mL suspensi bakteri uji yang disetarakan kekeruhannya dengan standar *McFarland* 0,5% ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) (Mursyida and Alfiola, 2020), diinokulasikan ke media MHA secara merata dengan cara *spread plate* (merata ke seluruh permukaan media) dan didiamkan selama 10 menit agar suspensi terserap pada media (Puasa *et al.*, 2019). Setelah itu, diletakkan disk antibiotik (klindamisin, amoksisilin, kloramfenikol, dan ciprofloxacin) pada permukaan media, lalu diinkubasi selama 24 jam dan diamati daerah hambat pada media.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi

Suspensi bakteri uji sebanyak 0,2 mL diinokulasikan ke media MHA secara merata dengan cara *spread plate* (merata ke seluruh permukaan media) dan didiamkan selama 10 menit agar suspensi terserap pada media (Puasa *et al.*, 2019). Setelah itu, diletakkan disk yang terdapat senyawa uji dengan konsentrasi ekstrak metanol lengkuas yaitu 30%, 40%, 50%, dan 60% dengan kandungan tiap masing-masing disk sebanyak 4,5; 6; 7,5; dan 9 mg, dan fraksi metanol, kloroform, etil asetat dengan konsentrasi sama yaitu 100% yang mengandung 15 mg fraksi tiap disk, serta kontrol positif (antibiotik dengan daerah hambat paling besar) dan kontrol negatif (DMSO), lalu diinkubasi selama 24 jam dan diamati daerah hambat pada media.

Uji komponen senyawa aktif (Uji KLT)

Kandungan senyawa aktif diidentifikasi dengan uji KLT menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diamnya yang telah dipanaskan dalam oven selama 30 menit pada suhu 110 °C (Archana and Anubha, 2011). Ekstrak dan fraksi lengkuas ditotolkan pada lempeng KLT, dibiarkan hingga kering lalu dimasukkan ke dalam chamber yang sudah jenuh dengan cairan pengelusi. Fase gerak untuk ekstrak lengkuas adalah n-heksan:etil asetat (5:5 v/v), sedangkan fase gerak untuk fraksi lengkuas adalah n-heksan:etil asetat (6:4 v/v). Setelah terelusi, lempeng dikeluarkan dari *chamber*, lalu diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm, kemudian ditentukan Rf (*Retardation factor*) (Paramita *et al.*, 2018). Identifikasi dengan reagen pereaksi semprot, pereaksi Dragendorff untuk uji alkaloid, pereaksi FeCl₃ untuk uji fenolik, pereaksi Liebermann-Burchard untuk uji terpenoid (Kaban *et al.*, 2016), dan pereaksi Sitroborat untuk uji flavonoid, lalu diamati di bawah sinar UV 366 nm dan sinar tampak.

Uji bioautografi

Uji bioautografi dilakukan dengan plat silika gel GF₂₅₄ yang ditotolkan ekstrak dan fraksi lengkuas yang kemudian dielusi dengan masing-masing fase gerak yaitu n-heksan:etil asetat (5:5 v/v) dan n-heksan:etil asetat (6:4 v/v). Setelah terelusi, lempeng dikeluarkan dari *chamber*. Suspensi bakteri uji sebanyak 0,2 mL diinokulasikan ke media MHA secara merata dengan cara *spread plate* (merata ke seluruh permukaan media) dan dibiarkan permukaan mengering. Lempeng KLT yang telah dielusi, ditempelkan pada media lalu diambil dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Kemudian diamati daerah hambatnya (Paramita *et al.*, 2018).

Analisis data

Untuk menilai signifikansi statistik, dilakukan uji *One Way Anova* pada kelompok perlakuan ekstrak metanol dan fraksi lengkuas (Trisia *et al.*, 2018). Uji *One Way Anova* memerlukan uji normalitas dan uji variansi untuk menjamin homogenitas data sebelum dapat dijalankan. Uji *Shapiro-Wilk* dipakai untuk mendapatkan pengetahuan apakah data diameter hambat ekstrak lengkuas terdistribusi normal. Analisis homogenitas dan *One Way Anova* dapat dijalankan terhadap data yang mempunyai skor $p > 0,05$ yang mencerminkan jika data tersebut berdistribusi normal. Selain itu diuji variansinya dengan menerapkan data yang sama yaitu diameter hambat ekstrak lengkuas. Uji *One Way Anova* dapat dijalankan jika skor probabilitasnya lebih besar dari 0,05 yang menjelaskan jika seluruh sampel mempunyai variansi yang sama. Apabila dalam uji normalitas menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal, digunakan uji *Kruskal-Wallis* (Quraisy and Hasni, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi

Sampel uji rimpang lengkuas setelah dibersihkan, dikeringkan pada suhu 50 °C dengan tujuan mengurangi kadar air di dalam rimpang lengkuas sehingga dapat meminimalkan pertumbuhan mikroba pada rimpang selama masa penyimpanan sebelum pengujian (Warnis *et al.*, 2020). Pengeringan berlangsung selama 2-3 hari untuk memastikan jika rimpang benar-benar kering. Setelah kering sampel diserbukan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga

interaksi filter dengan rimpang dapat menembus dinding sel dan melarutkan bahan kimia yang ada. Berat total simplisia yang diperoleh adalah 500 gram.

Maserasi dilakukan dengan metanol 70% yang dapat dipakai untuk melarutkan analit polar dan nonpolar karena di dalam struktur metanol terdapat adanya gugus hidroksil dan metil yang dapat menarik masing-masing analit polar dan nonpolar (Saputra *et al.*, 2018). Ekstrak metanol dari rimpang dan daun *Alpinia galanga* memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Ghosh and Rangan, 2013). Alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dapat diekstraksi dengan metanol (Astarina *et al.*, 2012). Untuk mendapatkan hasil yang lebih maksimal, perlu dilakukan remaserasi dengan penambahan pelarut metanol 70% seperti pada maserasi pertama ke dalam hasil penyaringan maserasi pertama (Ningsih *et al.*, 2015). Hasil keseluruhan proses ekstraksi ini adalah sebanyak 75,10 gram ekstrak kental dengan persen rendemen sebesar 15,02%.

Hasil fraksinasi

Metode fraksinasi cair-cair didasarkan pada kelarutan analit atau senyawa dalam dua pelarut yang tidak dapat bercampur. Prinsip dari pemisahannya adalah senyawa organik akan terdistribusi pada setiap fasenya tergantung masing-masing kelarutannya, sehingga membentuk dua lapisan (Dalimunthe *et al.*, 2016). Fraksinasi rimpang lengkuas menggunakan metanol 80% sebagai pelarut ekstrak kental karena pada konsentrasi yang lebih tinggi dapat melarutkan ekstrak dengan baik sehingga dalam proses pemisahan dapat optimal. Selain itu, dengan konsentrasi yang lebih tinggi akan mempercepat proses penguapan untuk mendapatkan ekstrak kental. Metode fraksinasi memungkinkan seseorang memperkirakan polaritas komponen yang akan dipisahkan. Metode fraksinasi lebih baik dibandingkan yang lain karena dapat memisahkan molekul bioaktif berdasarkan derajat kepolarannya.

Tabel 1. Hasil rendeman ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas

Sampel	Bobot Sampel (gram)	Rendemen (%)
Ekstrak metanol 70%	75,10	15,02%
Fraksi metanol 80%	5,26	52,6%
Fraksi etil asetat	0,18	1,8%
Fraksi kloroform	1,01	10,1%

Dari tabel 1 di atas, menunjukkan bahwa di dalam lengkuas lebih banyak terdapat golongan senyawa yang bersifat polar.

Hasil uji sensitivitas bakteri

Sensitivitas bakteri ditentukan melalui uji sensitivitas menggunakan metode difusi disk yang hasilnya tertulis di tabel 2. Uji sensitivitas antibiotik menunjukkan diameter daerah hambat ciprofloksasin paling besar terhadap *Shigella sonnei* (31,8 mm) dan *Bacillus cereus* (35,3 mm). Siprofloksasin termasuk ke dalam golongan fluoroquinolon. Fluoroquinolon bekerja sebagai inhibitor topoisomerase II (DNA girase) dan topoisomerase IV, sehingga mencegah sintesis DNA bakteri (Sri and Setyawati, 2016). *Fluoroquinolones* efektif melawan berbagai macam bakteri karena menekan transkripsi dan replikasi dengan mengganggu proses sintesis DNA bakteri (Agustina *et al.*, 2020). Relaksasi DNA superkoil positif dalam proses transkripsi dan

replikasi dihambat oleh DNA girase. Pemisahan kromosom DNA setelah proses replikasi saat pembelahan sel menjadi terganggu karena adanya inhibisi topoisomerase IV (Sri and Setyawati, 2016). Berdasarkan hasil uji sensitivitas, antibiotik ciprofloxacin dipilih menjadi kontrol positif pada uji aktivitas antibakteri.

Tabel 2. Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*

Antibiotik	Rata-rata diameter zona hambat (mm) ± SD	
	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Klindamisin	10,0 ± 0,00	12,0 ± 2,94
Amoksisilin	23,3 ± 0,24	23,3 ± 1,65
Kloramfenikol	29,5 ± 0,71	26,8 ± 7,32
Ciprofloxacin	31,8 ± 1,65	35,3 ± 0,47

Keterangan: Diameter daerah hambat sudah termasuk diameter disk (6 mm)

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi

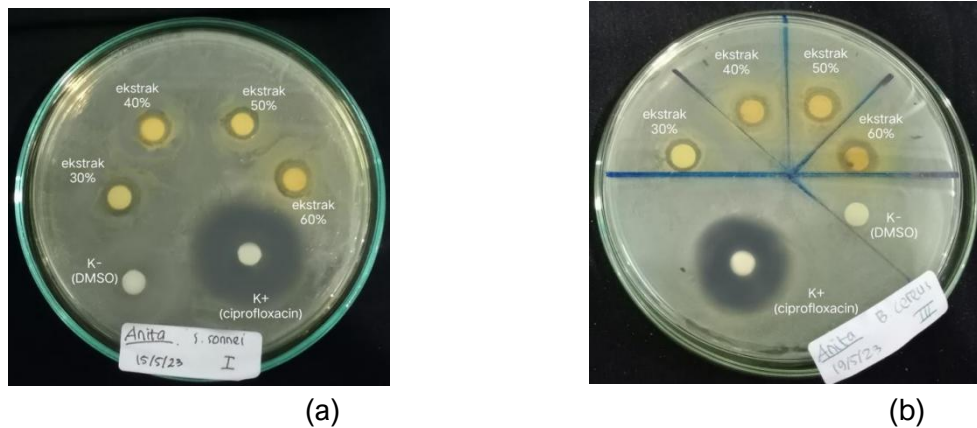
Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas dilakukan menggunakan metode difusi disk. Pada percobaan ini DMSO dipakai untuk membuat larutan konsentrasi ekstrak dan fraksi dengan kandungan yang bervariasi karena DMSO merujuk pada pelarut universal (dapat melarutkan zat polar dan non-polar) yang tidak membunuh bakteri, maka DMSO dipakai menjadi kontrol negatif (Huda *et al.*, 2019). Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas tercantum di tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji tindakan antibakteri ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas terhadap bakteri *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*

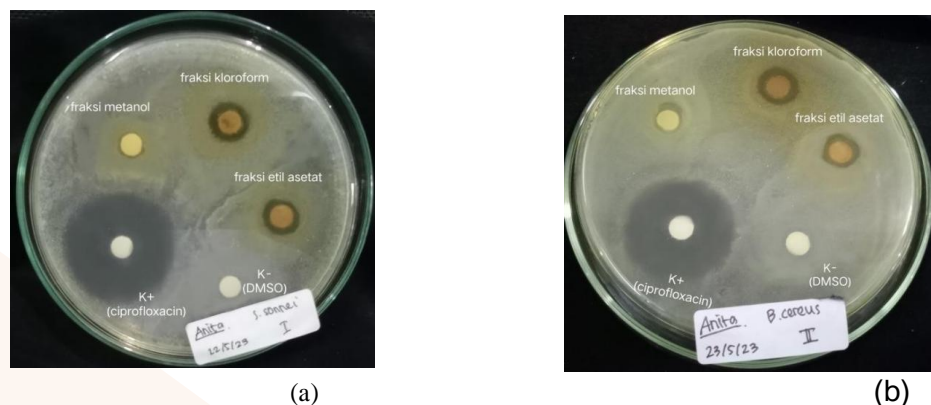
Jenis sampel	Konsentrasi (%)	Kandungan (mg/disk)	Rata-rata diameter zona hambat (mm) SD	
			<i>Shigella sonnei</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Ekstrak Metanol 70%	30	4,5	9,83 ± 0,24	8,92 ± 0,31
	40	6	10,75 ± 0,20	10,50 ± 0,41
	50	7,5	11,58 ± 0,31	11,33 ± 0,24
	60	9	12,08 ± 0,31	12,50 ± 0,41
Kontrol Positif (Ciprofloxacin)			31,67 ± 0,85	27,67 ± 0,24
Kontrol Negatif (DMSO)			6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0
Fraksi Metanol 80%	100	15	6,67 ± 0,47	7,50 ± 1,08
Fraksi Kloroform	100	15	16,17 ± 0,47	11,67 ± 0,24
Fraksi Etil asetat	100	15	12,33 ± 0,85	10,83 ± 0,47
Kontrol Positif (Ciprofloxacin)			30,67 ± 0,47	29,83 ± 0,24
Kontrol Negatif (DMSO)			6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0

Adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan terlihatnya zona bening di daerah sekitar disk. Berdasarkan data, dapat dilihat bahwa terdapat peningkatan diameter zona hambat seiring dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak yang digunakan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin besar pula daya hambat terhadap bakteri uji (Rini *et al.*, 2018). Ekstrak lengkuas paling efektif melawan

bakteri *Shigella sonnei*, pada konsentrasi 60% (9 mg/disk) yang menghasilkan zona hambat sebesar $12,08 \pm 0,31$ mm; sedangkan terhadap bakteri *Bacillus cereus*, pada konsentrasi 60% (9 mg/disk) menghasilkan zona hambat sebesar $12,50 \pm 0,41$ mm. Hasil pengujian antibakteri fraksi lengkuas menunjukkan bahwa hasil paling efektif melawan bakteri *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus* yaitu fraksi kloroform. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri lebih banyak terkandung dalam fraksi kloroform (non-polar). Pada konsentrasi 100% (15 mg/disk), uji aktivitas antibakteri fraksi kloroform menghasilkan zona hambat sebesar $16,17 \pm 0,47$ mm dan $11,67 \pm 0,24$ mm.



Gambar 1. Hasil uji antibakteri ekstrak metanol 70% rimpang lengkuas (a) terhadap bakteri *Shigella sonnei*, dan (b) terhadap bakteri *Bacillus cereus*



Gambar 2. Hasil uji antibakteri fraksi rimpang lengkuas, (a) terhadap bakteri *Shigella sonnei*, dan (b) terhadap bakteri *Bacillus cereus*

Hasil uji statistik ekstrak metanol terhadap *Shigella sonnei*, tes normalitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,000, data tidak terdistribusi secara normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,014, yang menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi secara homogen ($p > 0,05$). Uji non-parametrik (*Independent-Samples Kruskal-Wallis Test*) menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,006 ($p < 0,05$), akan tetapi pada hasil komparasi antar konsentrasi menunjukkan bahwa data tidak berbeda secara signifikan. Untuk *Bacillus cereus*, tes normalitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,001, yang menunjukkan distribusi data

yang tidak normal ($p > 0,05$), sedangkan tes homogenitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,334, yang menunjukkan distribusi data yang homogen ($p > 0,05$). *Independent-Samples Kruskal-Wallis Test* menghasilkan nilai signifikansi 0,005 ($p < 0,05$), tetapi pada hasil komparasi antar konsentrasi menunjukkan bahwa data tidak berbeda secara signifikan dan hanya antara konsentrasi 30% dan 60% yang menunjukkan berbeda signifikan (sig. 0,038).

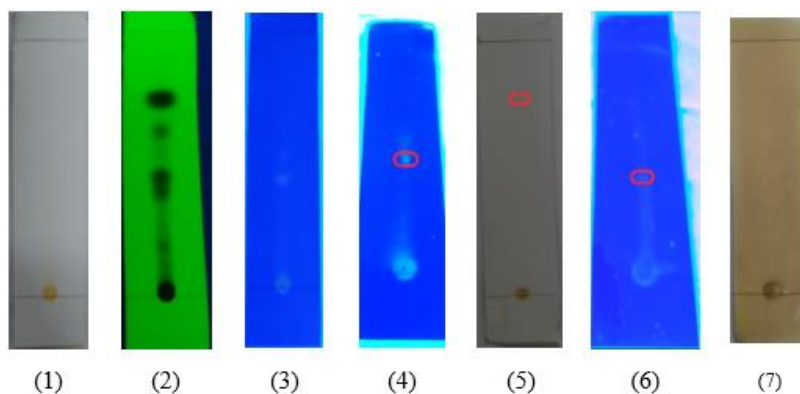
Analisis statistik dari data uji aktivitas antibakteri fraksi *Alpinia galanga* terhadap *Shigella sonnei*, tes normalitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,200, yang menunjukkan bahwa data tersebut terdistribusi secara normal ($p > 0,05$), sedangkan tes homogenitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,034, yang menyatakan bahwa data tidak terdistribusi secara homogen ($p > 0,05$). Karena data menunjukkan distribusi normal, ANOVA *one way* dilakukan. Uji ANOVA *one way* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan zona hambat yang signifikan karena pengaruh dari ketiga fraksi rimpang *Alpinia galanga* yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella sonnei*. Untuk *Bacillus cereus*, tes normalitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,001, yang menunjukkan distribusi data tidak normal ($p > 0,05$), dan tes homogenitas menunjukkan nilai signifikansi 0,005, yang berarti distribusi data tidak homogen ($p > 0,05$). Hasil tes non-parametrik, menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,009 ($p < 0,05$), akan tetapi pada hasil komparasi antar fraksi menunjukkan bahwa tidak adanya signifikansi dari fraksi rimpang *Alpinia galanga* yang berbeda pada zona inhibisi untuk *Bacillus cereus*.

Hasil uji fitokimia

Senyawa metabolit sekunder dapat diidentifikasi pada suatu bahan alam melalui skrining fitokimia. Metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan memiliki dampak signifikan terhadap hasil pemeriksaan fitokimia, sehingga untuk menarik komponen aktif yang dituju secara tepat dan efisien maka pelarutnya harus optimal (Vifta and Advistasari, 2018). Metanol adalah pelarut pilihan untuk penelitian ini karena dapat dipakai untuk melarutkan analit polar dan nonpolar. Berbagai senyawa metabolit sekunder tumbuhan, termasuk alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid, dapat ditarik ke metanol (Astarina *et al.*, 2012).

Tabel 4. Hasil uji fitokimia ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas

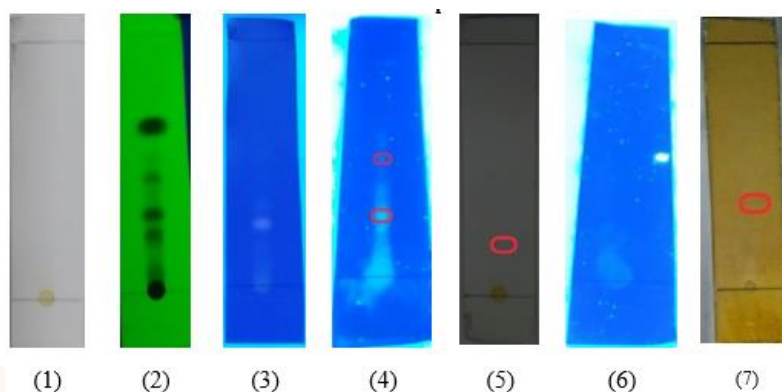
Plat	Reagen Semprot	Rf	Visualisasi	Warna/fluoresensi	Keterangan
Ekstrak methanol 70%	Sitoborat	0,5	UV 366 nm	Hijau kekuningan	(+) Flavonoid
	Dragendorff	0,76	Sinar tampak	Jingga	(+) Alkaloid
	LB	0,46	UV 366 nm	Biru violet	(+) Terpenoid
	FeCl ₃	-	Sinar tampak	Tidak kehitaman	(-) Fenolik
Fraksi Kloroform	Sitoborat	0,3 0,46	UV 366 nm	Hijau kekuningan	(+) Flavonoid
	Dragendorff	0,6	Sinar tampak	Jingga	(+) Alkaloid
	Liebermann-Burchard	-	UV 366 nm	Tidak biru violet atau merah violet	(-) Terpenoid
	FeCl ₃	0,4	Sinar tampak	Kehitaman	(+) Fenolik



Gambar 3. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol rimpang lengkuas

Keterangan:

- (1) Hasil elusi KLT sebelum disemprot pada sinar tampak
- (2) Hasil elusi KLT sebelum disemprot pada sinar UV 254 nm
- (3) Hasil elusi KLT sebelum disemprot pada sinar UV 366 nm
- (4) Hasil semprot reagen Sitroborat pada UV 366 nm, lingkaran merah menandakan terdeteksi flavonoid (hijau kekuningan)
- (5) Hasil semprot reagen Dragendorff pada sinar tampak, lingkaran merah menandakan terdeteksi alkaloid (jingga)
- (6) Hasil semprot reagen Liebermann-Burchard pada UV 366 nm, lingkaran merah menandakan terdeteksi terpenoid (biru violet)
- (7) Hasil semprot reagen FeCl_3 pada sinar tampak



Gambar 4. Hasil uji fitokimia fraksi kloroform rimpang lengkuas

Keterangan:

- (1) Hasil elusi KLT sebelum disemprot pada sinar tampak
- (2) Hasil elusi KLT sebelum disemprot pada sinar UV 254 nm
- (3) Hasil elusi KLT sebelum disemprot pada sinar UV 366 nm
- (4) Hasil semprot reagen Sitroborat pada UV 366 nm, lingkaran merah menandakan terdeteksi flavonoid (hijau kekuningan)
- (5) Hasil semprot reagen Dragendorff pada sinar tampak, lingkaran merah menandakan terdeteksi alkaloid (jingga)
- (6) Hasil semprot reagen Liebermann-Burchard pada UV 366 nm
- (7) Hasil semprot reagen FeCl_3 pada sinar tampak, lingkaran merah menandakan terdeteksi fenolik (kehitaman)

Muncul bercak berwarna hijau kekuningan jika senyawa flavonoid disemprot dengan pereaksi sitroborat (Forestryana and Arnida, 2020). Bercak hijau kekuningan dengan R_f 0,5 dan 0,3-0,46 terlihat pada ekstrak metanol dan fraksi kloroform di bawah UV 366 nm,

membuktikan adanya golongan senyawa flavonoid. Bercak berwarna oranye kecokelatan (jingga) dapat dilihat ketika digunakan reagen Dragendorff untuk mendeteksi adanya golongan alkaloid. Baik ekstrak metanol maupun fraksi kloroform bila diperiksa dengan cahaya tampak muncul bercak jingga dengan Rf masing-masing 0,76 dan 0,6 yang membuktikan adanya golongan senyawa alkaloid.

Bercak warna biru violet/merah violet dihasilkan oleh reagen Liebermann Burchard ketika terdapat golongan senyawa terpenoid (Fajriaty *et al.*, 2018). Di bawah UV 366 nm, ekstrak metanol muncul bercak merah muda/merah violet dengan Rf 0,46, membuktikan adanya golongan terpenoid, sedangkan untuk fraksi kloroform tidak terdapat terpenoid karena pada pengamatannya pada sinar UV 366 nm tidak terbentuk bercak merah violet. Ekstrak rimpang lengkuas memiliki senyawa aktif *1'-acetoxychavicol acetate* (ACA) (Zhang *et al.*, 2021), golongan terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Golongan senyawa fenolik diamati dengan reagen semprot FeCl_3 akan menimbulkan bercak biru kehitaman (Fajriaty *et al.*, 2018). Ekstrak metanol tidak terdapat golongan senyawa fenolik karena pada pengamatannya pada sinar tampak tidak adanya bercak biru kehitaman, sedangkan fraksi kloroform terdapat golongan senyawa fenolik karena adanya bercak kehitaman dengan Rf 0,4 pada pengamatan sinar tampak.

Alpinia galanga dan *Kaempferia galanga* mengandung saponin, fenol, flavonoid, tanin, steroid dan terpenoid, yang berkontribusi terhadap sifat antioksidan dan antibakteri. Penelitian uji fitokimia ekstrak metanol lengkuas (*Alpinia galanga*) terdapat golongan metabolit sekunder, yaitu saponin, flavonoid, tanin, fenol, steroid, dan terpenoid (Sani *et al.*, 2019). Hasil penelitian yang lainnya juga menyatakan jika flavonoid, alkaloid, steroid dan terpenoid telah terdeteksi pada ekstrak metanol dan fraksi rimpang *Alpinia galanga* (Avasthi *et al.*, 2015). Hasil pengujian KLT ini sesuai dengan hasil penelitian uji fitokimia ekstrak metanol rimpang lengkuas terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Pada uji fitokimia fraksi kloroform rimpang lengkuas terdapat senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, dan fenolik.

Hasil uji bioautografi

Adanya golongan senyawa kimia pada ekstrak yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri dapat diidentifikasi dengan menggunakan metode bioautografi kontak. Teknik ini didasarkan pada metode difusi agar, dimana bahan kimia antibakteri berdifusi dari plat KLT ke dalam media agar yang terdapat bakteri (Viogenta *et al.*, 2023). Dalam hal ini dilakukan uji bioautografi pada rimpang lengkuas untuk mengidentifikasi golongan kimia yang bersifat antibakteri pada ekstrak metanol dan fraksi kloroform.

Ekstrak metanol rimpang lengkuas menunjukkan hasil daerah hambat pada Rf 0,5, yang merupakan golongan flavonoid. Senyawa flavonoid banyak diisolasi dari tumbuhan sebagai antimikroba, antioksidan, dan antikanker (Yanti *et al.*, 2020). Mekanisme aktivitas antibakteri flavonoid adalah penekanan produksi asam nukleat, gangguan fungsi membran sel, dan gangguan metabolisme energi. Ikatan hidrogen berperan penting dalam efek penghambatan bahan kimia flavonoid pada sintesis asam nukleat. Permeabilitas dinding sel juga akan terganggu akibat interaksi flavonoid. Flavonoid menekan fungsi membran sel dengan bergabung dengan protein ekstraseluler dan terlarut untuk memproduksi senyawa kompleks, yang mengganggu membran sel dan melepaskan bahan kimia intraseluler (Nomer *et al.*, 2019).

Tabel 5. Hasil uji KLT-Bioautografi ekstrak metanol dan fraksi kloroform rimpang lengkuas terhadap bakteri *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*

Bakteri	Sampel	Rf	Keterangan
<i>Bacillus cereus</i>	Ekstrak	0,5	Diduga terdapat senyawa flavonoid sebagai antibakteri
	Fraksi	0,6	Diduga terdapat senyawa alkaloid sebagai antibakteri
<i>Shigella sonnei</i>	Ekstrak	0,5	Diduga terdapat senyawa flavonoid sebagai antibakteri
	Fraksi	0,3 0,6	Diduga terdapat senyawa flavonoid sebagai antibakteri Diduga terdapat senyawa alkaloid sebagai antibakteri

Hasil uji fraksi kloroform rimpang lengkuas menunjukkan bahwa daerah hambat pada Rf 0,6, yang merupakan alkaloid. Senyawa alkaloid mempunyai aktivitas sebagai antimikroba, obat penenang, menaikkan tekanan darah (Yanti *et al.*, 2020). Alkaloid mengganggu pembentukan komponen peptidoglikan pada sel bakteri, yang menyebabkan kematian bakteri. Alkaloid juga mempengaruhi metabolisme bakteri dengan mencegah produksi protein (Anggraini *et al.*, 2019).

Hasil uji fraksi kloroform lengkuas mendapatkan hasil bahwa pada nilai Rf 0,3 diduga terdapat senyawa flavonoid sebagai antibakteri terhadap *Shigella sonnei*. Lengkuas mengandung senyawa aktif *1'-acetoxychavicol acetate* (ACA) (Zhang *et al.*, 2021), golongan terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, yang berdasarkan pada hasil skrining fitokimia ditunjukkan pada Rf 0,46.

KESIMPULAN

Zona hambat rimpang lengkuas terbesar terbentuk pada konsentrasi 60% (9 mg/disk) ekstrak metanol dan konsentrasi 100% (15 mg/disk) fraksi kloroform. Ekstrak methanol rimpang lengkuas mengandung flavonoid, alkaloid, dan terpenoid, sedangkan fraksi kloroform mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan fenolik. Flavonoid dan alkaloid dari ekstrak methanol lengkuas dan fraksi kloroform, menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina D., Indreswari L., Trisianti F.N., El Milla K.I., Hermansyah B., Wahyudi S.S. and Firdaus J., 2020, Modulasi Aktivitas Ciprofloxacin Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Oleh N-Asetilsistein Dan Vitamin C, *Syifa' Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 11 (1), 30.
- Anggraini W., Nisa S.C., Da R.R. and ZA B.M., 2019, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo* l. Var.), *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5 (1), 61–66.
- Archana, B. A. and Anubha K., 2011, an Overview on Thin Layer Chromatography, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, (March), 256–267.
- Astarina, N.W.G, Astuti, K.W., Warditiani, N.K., 2012a, Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.), *Jurnal Farmasi Udayana*, 344 (4), 1–7.
- Avasthi A.S., Jain S., Bhatnagar M. and Ghosal S., 2015, In Vitro Antibacterial, Antifungal, Antioxidant and Antihemolytic Activities of *Alpinia galanga*, *International Journal of Phytomedicine*, 7, 78–89.

- Dalimunthe C.I., Sembiring Y.R.V., Andriyanto M., Siregar T.H., Darwis H.S. and Barus D.A., 2016, Identifikasi Dan Uji Metabolit Sekunder Bangun-Bangun (*Coleus amboinicus*) Terhadap Penyakit Jamur Akar Putih (*Rigidoporus microporus*) Di Laboratorium, *Jurnal Penelitian Karet*, 34 (2), 189–200.
- Direktorat Jenderal Hortikultura K.P., 2021, *Angka Tetap Hortikultura Tahun 2020*, Direktorat Jenderal Hortikultura Kementerian Pertanian, Jakarta.
- Fajriaty I., Andres, I.H.H., and Setyaningrum, R., 2018, Skrining Fitokimia Lapis Tipis Dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm F.), *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7 (1), 54–67.
- Fauzi N.P., Sulistiyangsih, and Runadi D., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Jawer Kotok (*Coleus atropurpureus* (L) Benth.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* ATTC 1223 dan *Staphylococcus epidermidis* ATTC 12228, *Farmaka*, 15 (3), 45–55.
- Forestryana D. and Arnida A., 2020, Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea spinosa* L.), *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11 (2), 113.
- Ghosh S. and Rangan L., 2013, Alpinia: The Gold Mine of Future Therapeutics, *Biotech*, 3 (3), 173–185.
- Hernani, Marwati T. and Winarti C., 2007, Pemilihan Pelarut Pada Pemurnian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga* L.) Secara Ekstraksi, *Jurnal Pascapanen*, 4 (1), 278–287.
- 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.
- Kaban, A.N., Daniel, L. and Saleh. C., 2016, Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana dan Etil Asetat Terhadap Ekstrak Jahe Merah, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14 (1), 24–28.
- Mursyida E. and Alfiola T., 2020, Pengaruh Pemberian Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*, *Klinikal Sains : Jurnal Analis Kesehatan*, 8 (1), 8–16.
- Ningsih G., Utami S.R., and Nugrahani R.A., 2015, Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendemen Saponin Dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur, *Jurnal Konversi Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 4 (1), 107565.
- Nomer N.M.G.R., Duniaji A.S. and Nocianitri K.A., 2019, Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8 (2), 216.
- Nuraini, Safrida, Hasanudin, 2021, Pemanfaatan Tumbuhan Tradisional sebagai Obat Diare pada Masyarakat Kecamatan Terangun Kabupaten Gayo Lues, *Jurnal Jeumpa*, 8 (April), 501–515.
- Paramita S., Yasir Y., Yuniati Y., Sina I., 2018, Analisis Bioautografi Kromatografi Lapis Tipis Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) Terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1 (9), 470–478.
- Permatasari D.A.I., 2022, Uji Potensi Ekstrak Etanol dan Fraksi N Heksan-Etil Asetat-Air Batang Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*, *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 11 (1), 116.

- Puasa N.S., Fatimawali F., and Wiyono W., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia* Isolat Urin Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih, *Pharmakon*, 8 (4), 982.
- Quraisy A. and Hasni N., 2021, Analisis Kruskal-Wallis Terhadap Kemampuan Numerik Siswa, *VARIANSI: Journal of Statistics and Its Application on Teaching and Research*, 3 (3), 156–161.
- Rini C.S., Rohmah J., and Widyaningrum L.Y., 2018, The Antibacterial Activity Test Galanga (*Alpinia galanga*) on the growth of bacteria *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 420 (1)
- Sangadji, T., Ely, I.P., and Husain, W., 2021, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas (*Alpinia purpurata* k. Schum) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dengan Menggunakan Metode Difusi Sumuran, *Jurnal Rumpun Ilmu Kesehatan*, 1 (2), 01-10.
- Sani, S.A., Faik, M.A.A., Abdulla, R. and Kunasekaran, S., 2019, Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial Activities of Two Kinds of Sabah Zingiberaceae, *Journal of Physics: Conference Series*, 1358 (1)
- 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.
- Sri, N.K., and Setyawati, T., 2016, Perbandingan Efektivitas Antibiotik (Ciprofloxacin, Cefotaxime, Ampicilin, Ceftazidime Dan Meropenem) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Ulkus Diabetik Dengan Menggunakan Metode Kierby-Bauer, *Jurnal Ilmiah Kedokteran*, 3 (2), 40–50.
- Tim Riskesdas, 2018, Laporan Nasional Riskesdas 2018, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Terdapat di: <https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan%20Riskesdas%202018%20Nasional.pdf>.
- Tresna S., Rejeki I.G.A., P.S. and Wardhani P., 2020, Description of Fecal Culture Results in Diarrhea Patients Due To Antibiotic Use, *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 26 (2), 193–197.
- Trimanto, T., Hapsari, L. and Dwiyanti, D., 2021, *Alpinia galanga* (L.) willd: Plant Morphological Characteristic, Histochemical Analysis And Review on Pharmacological, *AIP Conference Proceedings*, 2353 (May).
- Trisia, A., Philyria, R. and Toemon, A.N., 2018, Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract from Kalanduyung Leaf (*Guazuma ulmifolia* Lam.) on *Staphylococcus aureus* growth with Diffusion Method (Kirby-Bauer), *Anterior Jurnal*, 17 (2), 136–143.
- Vifta R.L. and Advistasari Y.D., 2018, Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.), *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1, 8–14. Terdapat di: <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/semnas/article/view/19/116>.
- Viogenta, P., Susanti, L. and Megasari, L., 2023, Antibacterial Activity and Bioautography of the Chloroform Fraction of Morel Berry (*Physalis angulata* L.) Root Against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Journal of Multidisciplinary Applied Natural Science*, 3 (1), 90–99.

- Warnis, M., Aprilina, L.A. and Maryanti, L., 2020, Pengaruh Suhu Pengeringan Simplisia Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.), Seminar Nasional Kahuripan, 264–268. Terdapat di: <https://conference.kahuripan.ac.id/index.php/SNapan/article/view/64>.
- Wulandari, S., Nisa, Y.S., Taryono, T., Indarti, S. and Sayekti, R.S., 2022, Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan, *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4 (2), 16.
- Yanti, Kuniti, N. and Mambang, 2020, Beberapa Tingkatan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Lengkuas (*Alpinia Galanga*), *Journal of Pharmaceutical Care and Science*, 1 (1), 102–111.
- Zhang, D., Zou, L., Wu, D.T., Zhuang, Q.G., Li, H. Bin, Mavumengwana, V., Corke, H. and Gan, R.Y., 2021, Discovery of 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) as a promising antibacterial compound from galangal (*Alpinia galanga* (Linn.) Willd), *Industrial Crops and Products*, 171 (May), 113883. Terdapat di: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113883>.