

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA RIMPANG LEMPUYANG
WANGI (*Zingiber aromaticum*) LEMPUYANG EMPRIT
(*Zingiber littorale*), dan LEMPUYANG GAJAH
(*Zingiber zerumbet*)**

LAPORAN TUGAS AKHIR

**NUR ANNISA
NPM. 13151028**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG
PROGRAM STUDI S**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA RIMPANG LEMPUYANG
WANGI (*Zingiber aromaticum*) LEMPUYANG EMPRIT
(*Zingiber littorale*), dan LEMPUYANG GAJAH
(*Zingiber zerumbet*)

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Kelulusan
Program Strata Satu

NUR ANNISA
13151028

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui

Pembimbing I



(Asep Roni, M.Si., Apt)

Pembimbing II



(Lia Marliani, M.Si., Apt)

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia dipergustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung dan terbuka untuk umum.

Referensi keputusan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

*Dipersembahkan untuk Keluarga Tercinta (Ibu dan Ayah) Serta
Kedua kakak yang selalu mendukung dan memotivasi*

ABSTRAK
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA RIMPANG LEMPUYANG
WANGI (*Zingiber aromaticum*) LEMPUYANG EMPRIT
(*Zingiber littorale*), dan LEMPUYANG GAJAH
(*Zingiber zerumbet*)

Oleh :
NUR ANNISA
13151028

Lempuyang adalah tumbuhan berkhasiat obat biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat lokal salah satunya sebagai obat kulit seperti bisul. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri melalui penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bakterisidal minimum (KBM) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Simplisia dari masing-masing rimpang lempuyang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi, lempuyang emprit dan lempuyang gajah terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* masing-masing sebesar 312,5 µg/mL, 1.250 µg/mL, dan 156,25 µg/mL. Sedangkan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* masing-masing sebesar 781,25 µg/mL, 6.250 µg/mL, dan 3.125 µg/mL. Konsentrasi bakterisidal minimum (KBM) ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebesar 312,5 µg/mL. Sedangkan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 781,25 µg/mL. Hasil penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) fraksi menunjukkan fraksi aktif yaitu fraksi etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* memiliki daya hambat sebesar 156,25 µg/mL, sedangkan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki daya hambat sebesar 390,63 µg/mL.

Kata kunci : Lempuyang (*Zingiber sp*), mikrodilusi, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT
ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF LEMPUYANG WANGI
RHIZOME (*Zingiber aromaticum*), LEMPUYANG EMPRIT
RHIZOME (*Zingiber littorale*) and LEMPUYANG
GAJAH RHIZOME(*Zingiber zerumbet*)

By :
NUR ANNISA
13151028

Lempuyang is efficacious drugs normally utilized by locals as one such skin boils remedy. This research was conducted to find out the antibacterial activity through the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) on the growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Simplicia of each lempuyang rhizome extracted by maceration method using solvent ethanol 96%. The antibacterial activity test showed minimum inhibitory concentration (MIC) of ethanol extract of the lempuyang wangi rhizome, lempuyang emprit rhizome and lempuyang gajah rhizome against *Staphylococcus epidermidis* bacteria is 312.5 µg/mL, 1,250 µg/mL, and 156.25 µg/mL. Whereas against the *Pseudomonas aeruginosa* bacteria is 781.25 µg/mL, 6,250 µg/mL, and 3,125 µg/mL. The minimum bactericidal concentration (MBC) of ethanol extract of the lempuyang wangi rhizome against *Staphylococcus epidermidis* bacteria is 312.5 µg/mL. Whereas against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria is 781.25 µg/mL. The result of minimum inhibitory concentration (MIC) determination of fraction showed the active fraction is ethyl acetate fraction against *Staphylococcus epidermidis* bacteria is 156.25 µg/mL, whereas against the *Pseudomonas aeruginosa* bacteria is of 390.63 µg/mL.

Keywords: Lempuyang (*Zingiber* sp), Microdilution, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur Penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya lah Penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum*), LEMPUYANG EMPRIT (*Zingiber littorale*) DAN LEMPUYANG GAJAH (*Zingiber zerumbet*)” tepat pada waktu yang telah ditentukan walaupun tidak sedikit hambatan dan kesulitan yang dihadapi oleh Penulis.

Dalam penulisan skripsi ini Penulis mendapatkan bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak, dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah Penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada yang terhormat :

1. Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung Bapak Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt
2. Bapak Asep Roni, M.Si., Apt dan Ibu Lia Marliani, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran dan perhatiannya untuk memberikan masukan dan bimbingan pengarah dengan tulus kepada Penulis selama penulisan skripsi ini.
3. Seluruh dosen yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama perkuliahan di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang telah memberikan bantuan selama perkuliahan
4. Keluarga tercinta, yang telah memberikan dorongan, baik secara moril maupun material serta doa yang terus mengalir
5. Serta teman-teman Ekstensi angkatan 2015 yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada Penulis sehingga dapat menyelesaikan proposal ini dengan tepat waktu.

Tidak lupa Penulis panjatkan harapan semoga Allah SWT memberikan balasan yang setimpal atas kebaikan yang telah diberikan kepada Penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna karena keterbatasan pengetahuan dan kemampuan Penulis. Untuk itu

Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun hingga skripsi ini akan menjadi lebih baik.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Lempuyang.....	5
2.2 Senyawa Aktif.....	12
2.3 Ekstraksi.....	13
2.4 Fraksinasi.....	13
2.5 Antibakteri.....	15
2.6 Bakteri.....	19
BAB 3. METODELOGI PENELITIAN.....	23
BAB 4. ALAT DAN BAHAN.....	24
4.1 Alat.....	24
4.2 Bahan.....	24
4.3 Bakteri.....	24
BAB 5. PROSEDUR PENELITIAN.....	25
5.1 Penyiapan Bahan.....	25
5.2 Determinasi Tumbuhan.....	25
5.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	25
5.4 Skrining Fitokimia.....	28
5.5 Pembuatan Ekstrak.....	31
5.6 Fraksinasi.....	31
5.7 Pemantauan Kromatografi Lapis Tipis.....	32
5.8 Pemantauan Antibakteri.....	32
5.9 Uji Bioautografi.....	34
BAB 6. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
6.1 Penyiapan Bahan.....	35
6.2 Pengolahan Bahan.....	35
6.3 Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	35
6.4 Hasil Skrining Fitokimia.....	38

6.5 Pembuatan Ekstrak	39
6.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri pada Ekstrak	40
6.7 Fraksinasi.....	44
6.8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Pada Fraksi	44
6.9 Hasil Uji Bioautografi.....	46
BAB 7. KESIMPULAN	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel VI.1 Hasil Karakterisasi Rimpang Lempuyang Wangi, Lempuyang Gajah dan Lempuyang Emprit.....	40
Tabel VI.2 Hasil Skrining Fitokimia Pada Simplisia dan Ekstrak.....	40
Tabel VI.3 Hasil KHM Rimpang Lempuyang Wangi, Lempuyang Gajah dan Lempuyang Emprit Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> Dengan Metode Mikrodilusi.....	40
Tabel VI.4 Hasil KHM Rimpang Lempuyang Wangi Lempuyang Gajah dan Lempuyang Emprit Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Dengan Metode Mikrodilusi.....	41
Tabel VI.5 Hasil data KHM dan KBM Pada Ekstrak Rimpang Lempuyang Wangi dan Lempuyang Gajah Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
Tabel VI.6 Hasil KHM Fraksi rimpang lempuyang wangi terhadap bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> dengan metode mikrodilusi.....	44
Tabel VI.7 Hasil KHM Fraksi Rimpang Lempuyang Wangi Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Dengan Metode Mikrodilusi	45
Tabel VI.8 Hasil Data KHM dan KBM Pada Fraksi Rimpang Lempuyang Wangi Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
Tabel VI. 9 Hasil Kadar Abu Total LempuyangWangi.....	55
Tabel VI.10 Hasil Kadar Abu Total Lempuyang Gajah.....	55
Tabel VI.11 Hasil Kadar Abu Total Lempuyang Emprit	55
Tabel VI.12 Hasil Kadar Abu Tidak Larut Etanol Lempuyang Wangi	56

Tabel VI.13 Hasil Kadar Abu Tidak Larut Etanol Lempuyang Gajah.....	56
TabelVI.14 Hasil Kadar Abu Tidak Larut Etanol Lempuyang Emprit	56
Tabel VI.15 Hasil Kadar Abu Larut Air Lempuyang Wangi	57
Tabel VI.16 Hasil Kadar Abu Larut Air Lempuyang Gajah	57
Tabel VI.17 Hasil Kadar Abu Larut Air Lempuyang Emprit.....	57
Tabel VI.18 Hasil Kadar Air Lempuyang Wangi.....	58
Tabel VI.19 Hasil Kadar Air Lempuyang Gajah.....	58
Tabel VI.20 Hasil Kadar Air Lempuyang Emprit	58
Tabel VI.21 Hasil Kadar Sari Larut Air Lempuyang Wangi.....	59
Tabel VI.22 Hasil Kadar Sari Larut Air Lempuyang Gajah.....	59
Tabel VI.23 Hasil Kadar Sari Larut Air Lempuyang Emprit	59
Tabel VI.24 Hasil Kadar Sari Larut Etanol Lempuyang Wangi..	60
Tabel VI.25 Hasil Kadar Sari Larut Etanol Lempuyang Gajah...	60
Tabel VI.26 Hasil Kadar Sari Larut Etanol Lempuyang Emprit .	60
Tabel VI.27 Hasil Susut Pengeringan.....	61

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Lempuyang Wangi	4
Gambar II.2 Lempuyang Emprit	6
Gambar II.3 Lempuyang Gajah	9
Gambar V.4 Skema prosedur penelitian	61
Gambar VI.5 Hasil Determinasi.....	62
Gambar VI.6 Hasil determinasi lanjutan.....	63
Gambar VI.7 Uji KHM pada bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	64
Gambar VI.8 Uji KHM pada bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	64
Gambar VI.9 Hasil uji KBM pada ekstrak rimpang Lempuyang wangi dan lempuyang gajah terhadap bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	65
Gambar VI.10 Hasil uji KBM pada ekstrak rimpang lempuyang wangi dan lempuyang gajah terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	65
Gambar VI.11 Hasil uji KHM fraksi dari lempuyang wangi terhadap bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	66
Gambar VI.12 Hasil Uji KHM Fraksi lempuyang wangi terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	66
Gambar VI.13 Hasil uji KBM fraksi etil asetat dan obat pembanding (Tetrasiklin) terhadap bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	67
Gambar VI.14 Hasil uji KBM fraksi etil asetat dan obat pembanding (tetrasiklin) terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67
Gambar VI.15 Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak dan Fraksi rimpang lempuyang wangi.....	68

Gambar VI.16	Hasil bioautografi dengan metode kontak dari fraksi etil asetat rimpang lempyang wangi terhadap bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	69
Gambar VI.17	Hasil bioautografi dengan metode kontak dari fraksi etil asetat rimpang lempuyang wangi terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	69
Gambar VI.18	Pemantauan bioautogafi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dari fraksi etil asetat rimpang lempuyang wangi	70

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Perhitungan Kadar Abu Total	55
Lampiran 2. Hasil Perhitungan Kadar Abu Tidak Larut Asam	56
Lampiran 3. Hasil Perhitungan Kadar Abu Larut Air	57
Lampiran 4. Hasil Perhitungan Kadar Air	58
Lampiran 5. Hasil Perhitungan Kadar Sari Larut Air	59
Lampiran 6. Hasil Perhitungan Kadar Sari Larut Etanol.....	60
Lampiran 7. Hasil Perhitungan Susut Pengeringan	61
Lampiran 8. Bagan Alir Prosedur Penelitian.....	62
Lampiran 9. Lembar Identifikasi Tumbuhan (Determinasi).....	63
Lampiran 10. Lembar Klasifikasi Tumbuhan (Determinasi).....	64
Lampiran 11. Penentuan KHM Dengan Menggunakan Metode Mikrodilusi Pada Ekstrak.....	65
Lampiran 12. Penentuan KBM Dengan Menggunakan Metode Difusi Agar Pada Ekstrak Lempuyang Wangi dan Lempuyang Gajah.....	66
Lampiran 13. Penentuan KHM Dengan Menggunakan Metode Mikrodilusi Pada Fraksi	67
Lampiran 14. Penentuan KBM Dengan Menggunakan Metode Difusi Agar Pada Fraksi Lempuyang Wangi.....	68
Lampiran 15. Pemantauan Ekstrak Dan Fraksi Rimpang Lempuyang Wangi.....	69
Lampiran 16. Hasil Pengujian Bioautografi Dengan Metode Kontak.....	70
Lampiran 17. Hasil Pemantauan Bioautografi	70

Bab I Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Tumbuhan berkhasiat obat mempunyai nilai lebih ekonomis dan efek samping lebih kecil dibandingkan dengan obat-obat sintesis, karena itu penggunaan tanaman obat dalam dasawarsa terakhir ini telah menarik perhatian dan kepopulerannya semakin meningkat dan tentunya lebih aman dan efektif (Wisataatmadja, 1997).

Salah satu tanaman yang menarik untuk diteliti adalah tanaman lempuyang, karena tanaman lempuyang digunakan sebagai jamu oleh masyarakat. Secara empiris, masyarakat menggunakan tanaman lempuyang sebagai alternatif pengobatan, sehingga diduga memiliki banyak khasiat. Tanaman lempuyang (*Zingiber sp.*) termasuk dalam famili *Zingiberaceae*. Berdasarkan bentuk, ukuran dan aroma rimpangnya, lempuyang terbagi menjadi 3 jenis yaitu: lempuyang wangi, lempuyang emprit, dan lempuyang gajah (Indartiyah *et al*, 2012).

Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) umumnya mempunyai warna kuning pucat, rasa tidak pahit, dan berbau harum (Indartiyah *et al*, 2012). Tanaman ini sering digunakan untuk mengobati luka dan penyakit kulit seperti koreng dan borok serta radang kulit (Anonim, 2016).

Lempuyang emprit (*Zingiber littorale* Val.) mempunyai rimpang yang kecil, berasa pahit dan warnanya kuning (Indartiyah *et al*,

2012). Tanaman ini digunakan untuk mengobati penyakit kulit serta berkhasiat pula sebagai stomakik (Anonim, 2013).

Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* Smith) mempunyai rimpang yang besar dan bewarna kuning berasa pahit (Indartiyah *et al*, 2012). Tanaman ini umumnya digunakan untuk menambah nafsu makan. Bersifat hangat, pedas, tajam dimana juga berkhasiat untuk anti radang dan stomakik, serta memiliki fungsi sebagai obat bisul, borok, nyeri perut, dan disentri (Sukmadjaja, 2012).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang lempuyang wangi, dan hasil penelitian tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella tiphy*. (Handayani, 2012).

Oleh karena itu, melalui pendekatan genus, lempuyang wangi, lempuyang emprit dan lempuyang gajah, dimana ketiga tanaman ini memiliki genus yang sama yaitu (*Zingiber*), maka diduga ke tiga tanaman ini memiliki kandungan senyawa antibakteri yang sama, dan dikaitkan dengan khasiat yang sama. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri ke tiga jenis lempuyang tersebut terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif dimana sering ditemukan pada kulit manusia yang terinfeksi berupa luka bernanah berwarna kuning sampai kuning kehijauan. Bakteri lain

yang tumbuh dikulit selain *Pseudomonas aeruginosa* adalah *Staphylococcus epidermidis* yaitu bakteri gram positif yang terdapat pada kulit, selaput lendir, bisul dan luka serta dapat menyebabkan bau badan (Jawetz, et al. 2001).

Berdasarkan pada uraian latar belakang tersebut, dalam rangka pengembangan pemanfaatan tanaman herba di Indonesia, khususnya rimpang lempuyang wangi, lempuyang emprit dan lempuyang gajah, maka penulis ingin melakukan pengujian aktivitas antibakteri pada rimpang lempuyang wangi, lempuyang emprit, serta lempuyang gajah.

I.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka yang menjadi masalah adalah :

1. Apakah ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi, lempuyang gajah dan lempuyang emprit memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan bagaimana aktivitasnya ?
2. Diantara lempuyang wangi, lempuyang gajah dan lempuyang emprit, manakah yang paling aktif sebagai antibakteri?
3. Apa golongan senyawa aktifnya?

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, dan membandingkan aktivitas dari ke tiga jenis rimpang lempuyang

yaitu lempuyang wangi, lempuyang emprit dan lempuyang gajah, serta mengetahui golongan senyawa aktif antibakterinya.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan februari - mei 2017 di Laboratorium Fitokimia dan Farmakologi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Lempuyang

Tanaman lempuyang (*Zingiber sp.*) termasuk dalam famili *Zingiberaceae*. Berdasarkan bentuk, ukuran dan aroma rimpangnya, lempuyang terbagi menjadi 3 jenis yaitu: lempuyang wangi, lempuyang emprit, dan lempuyang gajah (Indartiyah *et al*, 2012).

2.1.1 Lempuyang Wangi

A. Tinjauan Botani

i. Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber aromaticum</i> Val.

(Siswadi, 2006)



Gambar II.1 : Lempuyang Wangi

ii. Morfologi

Lempuyang wangi mempunyai batang semu, tinggi kurang lebih 1 meter. Daun berbentuk lanset, panjang 14 cm sampai 40 cm, lebar 3 cm sampai 8,5 cm, bagian pangkal bundar atau tajam, sangat tajam atau runcing, permukaan daun bagian atas berambut; tangkai daun berambut, panjang 4 mm sampai 5 mm; daun berlidah tegak, berselaput, berambut, panjang lidah 1,5 sampai 3 cm, perbungaan berupa mayang tersembul diatas tanah, ganggang perbungaan lebih panjang dari mayang, ramping dan sangat kuat, bersisik berbentuk lanset, sisik berbentuk merah, panjang sisik 3 cm sampai 6,5 cm. Daun pelindung lebih panjang dari kelopak bunga, berbentuk bundar telur terbalik, belah ketupat atau jorong dengan ujung yang rata, berambut rapat berwarna hijau kemerahan atau merah gelap, pada tepi hampir tak berambut, panjang daun pelindung 1,5 cm sampai 4 cm, lebar 1,25 cm sampai 4 cm. Mayang berbentuk bulat telur, panjang 2 sampai 2,5 kali lebar, panjang mayang 3,5 cm sampai 10,5 cm lebar 1,5 cm sampai 5,5 cm; panjang kelopak bunga 13 mm sampai 1 mm; mahkota bunga berwarna kuning terang, kuning gelap atau putih kekuningan, tinggi tabung 2 cm sampai 3 cm, berbentuk bundar telur sampai jorong, tajam atau runcing, bibir berbentuk bundar, bundar telur, bundar telur sungsang, rata bagian ujung berwarna jingga kekuningan, panjang bibir 12 mm sampai 20 mm, lebar 15 mm sampai 20 mm; kepala sari berbentuk jorong, berwarna kuning terang, panjang 8 mm sampai 10 mm (Depkes RI, 1989).

Pada rimpang lempuyang wangi umumnya mempunyai warna kuning pucat, rasa tidak pahit, dan berbau harum (Indartiyah *et al*, 2012).

iii. Budidaya atau Tempat Tumbuh

Tanaman lempuyang wangi ini tumbuh alami didaerah dengan iklim tropis asia. Tanaman ini banyak tumbuh ditempat-tempat liar yang basah didaratan rendah maupun daratan tinggi, pada umumnya tumbuh baik dibawah hutan jati (Anonim, 2015).

B. Kegunaan dan Aktivitas Farmakologi

Rimpang lempuyang wangi sangat efektif mengatasi serangan bakteri juga cacing. Beberapa pakar herbal mengatakan jenis ini efektif untuk mengatasi luka keluhan penyakit kulit seperti koreng atau borok, serta juga dapat mengobati radang kulit. Selain itu disebutkan bahwa lempuyang dapat melangsingkan badan, melawan kanker, meredakan diare, mengobati batuk rejan, meredakan nyeri akibat rematik dan lain-lain (Anonim, 2016).

Aktivitas farmakologi dari rimpang lempuyang wangi, Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang lempuyang wangi, dan hasil penelitian pada tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella tiphy*. (Handayani, 2012).

C. Kandungan Senyawa

Rimpang lempuyang wangi mengandung saponin, flavonoid, terpenoid dan tanin (Widiasari, 2015).

2.1.2 Lempuyang Emprit

A. Tinjauan Botani

i. Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Zingiber
Jenis	: <i>Zingiber littorale</i> Val.

(Cronquist, 1981)



Gambar II.2 : Lempuyang Emprit

ii. Morfologi

Lempuyang emprit berbatang semu, tinggi kurang lebih 1 cm. Daun berbentuk lanset, panjang 14 cm sampai 40 cm, lebar 3 cm sampai

8,5 cm, bagian pangkal bulat atau tajam atau runcing, permukaan daun bagian atas berbulu, tangkai daun berbulu, panjang tangkai 4 mm sampai 5 mm, daun berlidah, panjang 1,5 cm sampai 3 cm, tegak berselaput, berbulu. Perbungaan berupa mayang tersembul diatas tanah, ganggang bunga lebih panjang dari mayang, tegak, berbulu ramping dan sangat kuat, pada ganggang bunga terdapat sisik, berbentuk lanset, berbulu, berwarna merah, panjang sisik 3 cm sampai 6,5 cm; daun pelindung lebih panjang dari kelopak bunga, panjang 1,5 cm sampai 4 cm, lebar 1,25 cm sampai 4 cm, berbentuk bundar telur sungsang belah ketupat atau jorong dengan ujung yang agak melekok kedalam, padat dengan bulu-bulu, bulu berwarna hijau kemerahan, pada tepinya hampir tak berbulu; mayang berbentuk jorong membulat, panjang 3 sampai 3,5 kali lebar dengan ujung yang runcing; kelopak bunga, panjang 8 mm sampai 17 mm; mahkota bunga berwarna kuning terang, kuning gelap atau putih kekuningan, tinggi tabung 2 cm sampai 5 cm, berbentuk bundar telur sampai lonjong, tajam atau runcing, bibir berbentuk bundar, bundar telur sungsang rata bagian ujung-ujungnya panjang 12 mm sampai 20 mm, lebar 15 mm sampai 20 mm, berwarna jingga atau jingga kekuningan, kepala sari berbentuk jorong, panjang 8 mm sampai 10 mm, berwarna kuning terang (Depkes RI, 1989).

Lempuyang emprit mempunyai rimpang yang kecil, berasa pahit dan warnanya kuning (Indartiyah *et al*, 2012).

iii. Budidaya atau Tempat Tumbuh

Tanaman lempuyang emprit tumbuh alami di asia tenggara dengan iklim tropis. Di Jawa, tanaman ini tumbuh liar dalam hutan-hutan jati maupun didaratan rendah dengan ketinggian 600 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini sangat menyukai tanah-tanah yang gembur, kaya humus, lembab dan ternaungi serta cenderung tidak tahan terhadap penggenangan (Anonim, 2015).

B. Kegunaan dan Aktivitas Farmakologi

Rimpang lempuyang emprit secara empiris dapat di gunakan oleh masyarakat sebagai anti piretik atau anti serta tanaman ini digunakan untuk mengobati penyakit kulit dan berkhasiat pula sebagai stomakik (Anonim, 2013).

Aktivitas farmakologi lempuyang emprit menunjukkan ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherhia coli* (Karima, 2007).

C. Kandungan Senyawa

Lempuyang emprit diketahui mengandung senyawa saponin, tanin dan flavonoid (Mukharomah, 2011).

2.2.2 Lempuyang Gajah

A. Tinjauan Botani

i. Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Bangsa : Zingiberales
Suku : Zingiberaceae
Genus : Zingiber
Spesies : *Zingiber zerumbet* L.
(Cronquist, 1981)



Gambar II.3 : Lempuyang Gajah

ii. Morfologi

Lempuyang gajah berbatang semu, tinggi kurang lebih 1 m. Daun berbentuk lanset, panjang 14 cm sampai 40 cm, lebar 3 cm sampai 8,5 cm, pangkal bundar atau tajam, sangat tajam atau runcing, permukaan daun bagian atas berambut; tangkai daun berambut, panjang tangkai 4 mm sampai 5 mm, daun berlidah tegak, berselaput, berambut, panjang 1,5 cm sampai 3 cm. Perbungaan

berupa mayang tersembul diatas tanah, bentuk mayang selalu berubah-ubah, bulat telur, jorong belah ketupat meruncing atau bundar pada ujungnya, panjang 3,5 cm sampai 10,5 cm, lebar 1,75 samapi 5,5 cm; ganggang bunga lebih panjang dari mayang, tegak, berambut, ramping dan sangat kuat, panjang ganggang 9 cm sampai 31 cm, pada ganggang bunga terdapat sisik berbentuk lanset, berambut, berwarna merah, panjang sisik 3 cm sampai 6,5 cm; daun pelindung lebih panjang dari kelopak bunga, berbentuk bundar telur sungsang, belah ketupat atau jorong dengan ujung yang bundar atau segitiga terbalik, penuh dengan rambut berwarna hijau kemerahan atau merah gelap, pada tepinya hampir tidak berambut, panjang 1,5 cm sampai 4 cm, lebar 1,25 cm sampai 4 cm; kelopak bunga panajng 13 mm sampai 17 mm; mahkota bunga berwarna kuning terang, kuning gelap atau putih kekuningan, tinggi tabung 2 cm sampai 3 cm, berbentuk bundar telur sampai jorong, tajam atau runcing, bibir berbentuk bundar telur sungsang rata pada bagian ujungnya, berwarna jingga atau jingga kekuningan, panjang 12 mm sampai 20 mm, lebar 15 mm sampai 20 mm; kepala sari berbentuk jorong, berwarna kuning terang, panjang 8 mm sampai 10 mm. Buah berbentuk bulat telur sungsang berwarna merah, panjang 12 mm, lebar 8 mm, biji berbentuk jorong bulat, panjang 4 mm (Depkes RI, 1989).

Lempuyang gajah ini mempunyai rimpang yang besar dan bewarna kuning berasa pahit (Indartiyah, 2012).

iii. Budidaya atau Tempat Tumbuh

Tanaman lempuyang gajah tumbuh di wilayah asia dengan iklim tropis, pada umumnya tumbuh liar di hutan dataran tinggi dengan ketinggian hingga 1200 meter dari permukaan laut. Sementara di Jawa, tanaman ini sering ditanam di pekarangan rumah dan tempat-tempat lain yang basah (Anonim, 2015).

B. Kegunaan dan Aktivitas Farmakologi

Secara empiris lempuyang gajah dapat digunakan sebagai obat bisul, borok, kaki bengkok, peluruh angin, kencing batu diare berlendir serta menambah nafsu makan (Sukmadjaja, 2012).

Aktivitas farmakologi dari rimpang lempuyang gajah dimana telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah terhadap bakteri *Esherichia colli* menunjukkan bahwa adanya aktivitas antibakteri terhadap *Esherichia colli* (Octaviani, 2007).

C. Kandungan Senyawa

Pada rimpang lempuyang gajah diketahui dari skrining fitokimia dimana mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin dan tanin (Juliati dkk, 2008).

II.2 Senyawa aktif

Pada tiga jenis tanaman lempuyang, dimana memiliki beberapa senyawa yang sama diantaranya yaitu flavonoid, saponin, dan tanin.

a. Flavonoid

Salah satu senyawa aktif dari ketiga tanaman lempuyang adalah flavonoid. Flavonoid adalah suatu senyawa metabolit sekunder. Flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif pada tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Struktur flavonoid memiliki hubungan dengan aktivitasnya sebagai antibakteri. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cowan, 1999).

b. Saponin

Senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan keluar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik, enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Robinson 2005).

c. Tanin

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin yang mempunyai target pada polipeptida

dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel pada bakteri, karena tanin merupakan senyawa fenol (Naim, 2004).

II.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan tahap awal pada jalur isolasi metabolit sekunder dari tumbuhan obat. Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Dengan diketahui senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dengan cara ekstraksi yang tepat. (Depkes RI, 1995).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersedia diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada maserasi terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan didalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang. Kinetik adalah cara ekstraksi, seperti maserasi yang dilakukan dengan cara pengadukan, sedangkan digesti adalah cara maserasi yang dilakukan pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu 40-60°C (Hanani, 2016).

II.4 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop) dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi) komposisi perubahan menurut kelandaian. Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedangkan fraksi yang lebih ringan akan berada diatas (Adijuwana, 1989).

Metode fraksinasi atau pemisahan umumnya:

1. Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan dengan menggunakan dua campuran pelarut yang tidak saling bercampur, sehingga senyawa tertentu terpisahkan menurut kesesuaian sifat dengan cairan pelarut (prinsip solve dissolve like).

2. Kromatografi

Kromatografi adalah teknik pemisahan zat dari campuran berdasarkan perbedaan migrasi komponen-komponen tersebut dari fase diam oleh fase gerak.

II.5 Antibakteri

2.5.1 Pengujian Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Dart, 1996). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada zat yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteristatik dan yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal sebagai bakterisida (Ganiswarna, 1995).

Pada uji antibakteri diukur respon pertumbuhan populasi bakteri terhadap agen antibakteri. Tujuan *assay* antibakteri (termasuk antibiotik dan substansi antibakteri nonantibiotik, misalnya fenol, bisfenol, aldehyd) adalah untuk menentukan potensi dan kontrol kualitas selama proses produksi senyawa antibakteri di pabrik, untuk menentukan farmakokinetika obat pada hewan atau manusia, dan untuk memonitor kemoterapi obat. Kegunaan uji antibakteri adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat bermacam-macam metode uji antibakteri seperti yang dijelaskan berikut ini:

1. Metode Difusi

a. Metode *Disc Diffusion* (Tes Kirby & Bauer)

Metode ini untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Piringan yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh agen antibakteri pada permukaan media agar.

b. Metode *E-Test*

Metode *E-Test* digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

c. *Ditch Plate Technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji

(maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri.

d. Cup Plate Technique

Metode ini serupa dengan metode *Disc Diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan bakteri dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji.

e. Gradient Plate Technique

Pada metode ini konsentrasi agen antibakteri pada media agar secara teoritis bervariasi dari nol hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring.

Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antibakteri berdifusi dan permukaan media mengering. Bakteri uji (maksimum 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan bakteri maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

2. Metode Dilusi

a. Metode Dilusi Cair / *Broth Dilution Test*

Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau KBM (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur

ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

b. Metode Dilusi Padat / *Solid Disolution Test*

Metode ini serupa dengan metode difusi cair namun menggunakan media padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji.

(Pratiwi, 2008).

Metode yang dapat dijadikan alternatif untuk menentukan konsentrasi hambat minimum ekstrak tanaman adalah metode dilusi yang mencakup makrodilusi dan mikrodilusi. Metode mikrodilusi sedang di kembangkan karena memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan teknik difusi agar. Sensitivitas mikrodilusi mencapai 30 kali lebih sensitif (Lay, 1994).

2.5.2 Bioautografi

Bioautografi merupakan suatu metode yang spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil kromatografi kertas yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antifungi dan anti viral. Bioautografi juga merupakan suatu metode yang cepat untuk mendeteksi antibiotik yang belum diketahui yang mana metode kimia atau fisika yang terbatas untuk substansi yang murni. Sementara deteksi kimia reaksi warna hanya spesifik digunakan sebagai pembanding hasil bioautografi sehingga kedua metode tersebut saling melengkapi (Stahl, 1985).

Ada beberapa syarat yang harus dipenuhi sebelum melakukan uji bioautografi antara lain :

1. Sterilisasi alat dan proses pengerjaannya
2. Ada media yang cocok untuk menumbuhkan mikroba uji
3. Ada mikroba uji yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri senyawa uji
4. Senyawa yang akan dianalisis diduga memiliki aktivitas membunuh atau menghambat bakteri (Wagman & Wenstein, 1983)

Ada 3 metode bioautografi yaitu :

1. Bioautografi langsung / direct, dimana mikroorganisme tumbuh secara langsung diatas lempeng KLT
2. Bioautografi kontak / contact, dimana senyawa dipindahkan dari lempeng KLT ke medium
3. Bioautografi pencelupan / overlay, dimana medium agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme dituang diatas lempeng KLT

(Mulyaningsih, 2004).

II.6 Bakteri

Bakteri adalah organisme uni seluler dan prokariot serta umumnya tidak memiliki klorofil dan berukuran renik (mikroskopis). Ada beberapa bentuk dasar bakteri, yaitu bulat (tunggal: *coccus*, jamak: *cocci*), batang atau silinder (tunggal: *bacillus*, jamak: *bacilli*), dan spiral yaitu berbentuk batang melengkung atau melingkar-lingkar.

Umumnya bakteri adalah monoformik (memiliki hanya satu bentuk), namun ada bakteri tertentu yang memiliki banyak bentuk (polimorfik). Sebagian besar memiliki diameter dengan ukuran 0,2-2,0 mm dan panjang berkisar 2-8 mm. Biasanya sel-sel bakteri yang muda berukuran jauh lebih besar daripada sel-sel yang tua. Bentuk dan ukuran suatu bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti temperatur inkubasi, umur kultur, dan komposisi media pertumbuhan (Pratiwi, 2008).

Berdasarkan pewarnaan gram, bakteri dibagi menjadi dua yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis daripada dinding sel bakteri gram positif (Pelczar et al, 1988).

2.6.1 Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

A. Klasifikasi

Kingdom : Bacteria
Divisi : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Family : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus epidermidis*
(Todar, 2012).

Staphylococcus epidermidis berada pada kulit dan membran mukosa manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi kulit dengan menyerang dan merusak jaringan kulit (Kosasih, 2011).

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif, nonmotil, tidak berspora, bersifat aerob fakultatif. Bakteri ini merupakan mikroflora normal yang terdapat pada tubuh manusia bagian kulit kepala, dahi, pipi, auditori kanal eksternal, daun telinga, aksila, perineum, lengan, kaki, dan jaringan diantara jari kaki. *Staphylococcus epidermidis* memiliki adhesin yang terkait dengan patogenesis penyebab infeksi kulit (Kosasih, 2011).

2.6.2 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

A. Klasifikasi

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(Todar, 2012)

Pseudomonas merupakan bakteri gram negatif, motil, aerobik dan berbentuk batang. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menghasilkan nanah warna hijau biru. *Pseudomonas aeruginosa* sering ada dalam jumlah sedikit pada flora

normal usus dan kulit manusia dan merupakan patogen utama dari kelompoknya (Mayasari, 2006).

Pseudomonas aeruginosa menjadi patogenik hanya jika berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya selaput lendir dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan. Bakteri menempel dan menyerang selaput lendir atau kulit, menyebar dari tempat tersebut, dan berakibat penyakit sistemik. Tumbuh baik pada suhu 37-42°C, membentuk koloni bulat, halus dengan warna fluoresen kehijauan (Jawetz et al, 2001).

Bab III Metodologi Penelitian

Penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental, dimana pada penelitian ini diawali dengan pengumpulan bahan, penyiapan bahan dan pengolahan bahan, determinasi tumbuhan, *Skrining* fitokimia, pembuatan ekstrak rimpang lempuyang wangi, lempuyang emprit dan lempuyang gajah dengan pelarut etanol secara maserasi kemudian dipekatkan. Dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri masing-masing ekstrak rimpang lempuyang wangi, lempuyang emprit dan lempuyang gajah terhadap bakteri *Staphylococcus epidirmidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan metode mikrodilusi. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan metode Ekstraksi Cair-cair (ECC), setelah dapat fraksinya maka dianalisis kromatografi pada fraksi aktif yang diperoleh dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase gerak yang sesuai, dengan dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, dan menggunakan penampak bercak spesifik. Golongan senyawa aktif ditentukan dengan metode bioautografi kontak.