

APLIKASI METABOLOMIK BERBASIS HPLC UNTUK MENGIDENTIFIKASI WAKTU RETENSI KOMPONEN ANTIBAKTERI *Stapylococcus aureus* PADA EKSTRAK BUNGA KECOMBRANG (*Etlingera elatior*)

APPLICATION OF HPLC-BASED METABOLOMICS TO IDENTIFY RETENTION TIMES ANTIBACTERIAL COMPONENTS OF *Stapylococcus aureus* FROM KECOMBRANG FLOWER EXTRACT (*Etlingera elatior*)

Wahyu Haryati Maser^{a*}, Herla Rusmarilin^a, Nancy Dewi Yuliana^b

^aProgram Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Jl. Prof. A. Sofyan 3 Kampus USU, Medan 20155 telp. (061) 8223196

^bDepartemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680 telp. (0251) 8373561

*email: maser.wahyuharyati@gmail.com

DOI : 10.20961/alchemy.v13i2.4890

Received 7 February 2017, Accepted 19 April 2017, Published online 1 September 2017

ABSTRAK

Kecombrang (*Etlingera elatior*) dikenal sebagai tanaman herbal di Indonesia yang umumnya digunakan untuk obat tradisional dan pemberi aroma pada masakan daerah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi waktu retensi yang merupakan komponen antibakteri *Stapylococcus aureus* yang berasal dari ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan menggunakan metode metabolomik berbasis HPLC. Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi air telah diuji dengan metode difusi sumur terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hanya pada fraksi kloroform yang menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Profil kimia dari fraksi yang dianalisis dengan HPLC telah dikorelasikan dengan profil aktivitas antibakteri dengan menggunakan analisis *Orthogonal Projection to Latent Structure* (OPLS). Area puncak pada waktu retensi 0,96 - 1,12 menit dari fraksi kloroform pada panjang gelombang 250 nm ditemukan berkorelasi signifikan dengan aktivitas antibakteri (nilai *Y related coefficient* sebesar 0,73).

Kata kunci: antibakteri, kecombrang (*Etlingera elatior*), metabolomik, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Kecombrang (*Etlingera elatior*) is a well-known herb in Indonesia that is widely used in traditional medicine and as a flavour in local dishes. The aim of this study was to identify retention time of antibacterial components from kecombrang flower extract (*Etlingera elatior*) by HPLC-based metabolomics method. The antibacterial activity of ethanol extracts, chloroform, and water fractions was assessed by well-diffusion agar method against *Staphylococcus aureus*. Only chloroform fraction showed medium inhibition activity against *Staphylococcus aureus*. The HPLC chemical profiles of the fractions were then correlated to their antibacterial activity profile by means of *Orthogonal*

Projection to Latent Structure (OPLS) analysis. Peak area with retention time of 0.96 - 1.12 min present in chloroform fraction at UV 250 nm was found to significantly correlate to the antibacterial activity (Y related coefficient value 0.73).

Keywords: antibacteria, kecombrang (*Etilingera elatior*), metabolomics, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Pangan merupakan kebutuhan esensial bagi setiap manusia. Namun, ketika pangan tersebut terkontaminasi mikroba maka pangan tersebut juga dapat menyebabkan penyakit bagi yang mengkonsumsinya. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif). Bakteri *Staphylococcus aureus* umumnya dapat ditemukan pada produk pangan yang kaya protein, misalnya seperti daging, ikan, unggas, susu dan produk-produk turunan dari susu (FDA, 2010). Bakteri ini dapat dihambat pertumbuhannya dengan komponen antibakteri dari tanaman tertentu.

Kecombrang (*Etilingera elatior*) merupakan salah satu tanaman lokal Indonesia. Kecombrang termasuk dalam *family Zingiberaceae*, *genus Etilingera*, dan *spesies Etilingera elatior* (Khaw, 2001). Bunga dan batang kecombrang telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk keperluan obat-obatan karena zat aktif yang terdapat di dalamnya seperti saponin, flavonoid, dan polifenol (Syamsuhidayat and Hutapea, 1991). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bunga kecombrang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Ghasemzadeh *et al.*, 2015, Wijekoon *et al.*, 2013, Abdelwahab *et al.*, 2010, Lachumy *et al.*, 2010, Naufalin *et al.*, 2005). Namun, identifikasi komponen aktif antibakteri dari bunga kecombrang belum dilakukan. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian mengenai identifikasi komponen aktif yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari ekstrak bunga kecombrang. Tahap awal penelitian dapat dengan mengidentifikasi terlebih dahulu waktu retensi komponen antibakteri dengan menggunakan analisis HPLC (profil kimia).

Identifikasi komponen bioaktif dari bahan alam umumnya dilakukan dengan metode isolasi senyawa bioaktif. Isolasi senyawa bioaktif merupakan metode identifikasi dengan teknik isolasi senyawa yang berulang-ulang dengan dipandu bioaktivitas hingga mendapatkan senyawa murni. Metode isolasi berulang-ulang untuk mendapatkan senyawa murni ini memakan banyak waktu dan biaya. Oleh karena itu, perlu alternatif dalam mengidentifikasi komponen bioaktif yaitu dengan menggunakan pendekatan metabolomik.

Metabolomik merupakan analisis komprehensif komponen dari suatu organisme pada waktu atau kondisi tertentu (Hall, 2006). Metabolomik dapat diaplikasikan untuk mempelajari korelasi antara bioaktivitas dan profil kimia dan pada akhirnya dapat digunakan untuk mengidentifikasi komponen bioaktif pada tanaman (Yuliana *et al.*, 2011b). Metode ini dilakukan dengan ekstraksi sampel secara komprehensif dengan menggunakan kombinasi pelarut pada tingkat kepolaran yang berbeda (Yuliana *et al.*, 2011a). Hal ini digunakan untuk mendapatkan penyebaran senyawa yang baik pada setiap ekstrak. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya digunakan untuk analisis bioaktivitas dan profil kimia dari ekstrak tanaman.

Instrumen yang paling baik untuk pengidentifikasian dalam aplikasi matabolomik pada saat ini adalah *nuclear magnetic resonance spectroscopy* (NMR). Hanya saja, penggunaan NMR memerlukan biaya yang tinggi. Salah satu instrumen yang lebih terjangkau dan dapat digunakan adalah *high performance liquid chromatography* (HPLC). Menurut Choi *et al.* (2011), HPLC dapat digunakan untuk aplikasi metabolomik dalam menentukan perbedaan komposisi senyawa fenol pada kulit citrus kering dengan berbagai kondisi penyimpanan dan perlakuan panas. Selain itu, Maser *et al.* (2015) juga mengaplikasikan metabolomik dengan HPLC dan LCMS untuk untuk mengidentifikasi komponen antibakteri dari ekstrak dan fraksi buah takokak (*Solanum torvum* Swartz) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Banyaknya data yang dihasilkan dari profil kimia menyebabkan analisis statistika pada studi metabolomik harus menggunakan analisis data multivariat. Salah satu cara analisis data multivariat yang dapat digunakan untuk melihat korelasi antara waktu retensi dengan aktivitas antibakteri yaitu dengan *orthogonal projection to latent sructure* (OPLS). Analisis ini akan mengelompokkan sampel berdasarkan bioaktivitasnya dalam bentuk *score plot*. Selain itu, dengan menggunakan *Y related coefficient plot* dapat dilihat waktu retensi dari hasil analisis profil kimiawi sampel yang memiliki korelasi dengan aktivitas antibakteri dan yang tidak memiliki korelasi dengan aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil analisis OPLS, dapat diidentifikasi waktu retensi komponen bioaktif ada ekstrak tanaman yang diperkirakan memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bunga kecombrang segar yang berasal dari pengumpul di pasar Binjai, Sumatera Utara, etanol, *n*-heksan, kloroform, aquades, kultur bakteri *Staphylococcus aureus*, media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), *chloramphenicol*, *dimethyl sulfoxide* (DMSO), aquabides, *regenerated membrane*, asetonitril, dan asam asetat.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven, alat-alat gelas, refrigerator, penyaring 30 mesh, *freezer*, timbangan, blender, *vorteks*, sentrifuge, *rotary evaporator*, timbangan analitik, inkubator 37 °C, inkubator 60 °C, penyaring vakum, HPLC Perkin Elmer Series 200 dengan Detektor UV-VIS 785A dengan jenis kolom C18, 4 µm, 150x3,9 mm, dan *software* SIMCA (v.13.01).

Persiapan Sampel dan Ekstraksi

Bunga kecombrang segar disortir, dicuci, dikupas, dikeringkan dengan pengering oven pada suhu 50 °C selama 12 jam, ditepungkan dengan menggunakan blender dan disaring dengan penyaring 30 mesh. Ekstraksi dilakukan pada 50 g tepung bunga kecombrang dengan etanol 80 % dengan cara divorteks, disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 30 menit, disaring, dan diambil filtratnya. Sebagian hasil ekstraksi dikeringkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C dan sebagian lagi dilakukan fraksinasi bertingkat dengan *n*-heksan, kloroform, dan aquades.

Proses fraksinasi pertama kali dilakukan dengan menggunakan pelarut *n*-heksan. Hasil fraksi non polar dikeringkan, dan fraksi polar difraksinasi lagi dengan pelarut kloroform. Prosedur fraksinasi diulang untuk pelarut terakhir yaitu aquades. Hasil ekstraksi dan fraksinasi dikeringkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C. Proses ekstraksi dan fraksinasi dilakukan dalam 3 kali ulangan.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri pada hasil ekstraksi dilakukan dengan metode difusi sumur yang dimodifikasi (Clinical Laboratory Standards Institute, 2008). Ekstrak dan fraksi dilarutkan dalam DMSO dengan konsentrasi 500 mg/mL. Sebanyak 500 mL media NA yang telah disterilisasi dituang ke dalam cawan sebanyak 25 ± 2 mL. Cawan yang berisi media tersebut kemudian didiamkan selama 1 jam hingga memadat. Pada media padat tersebut dibuat tiga buah lubang berdiameter 6 mm. Langkah selanjutnya sebanyak 60 µL ekstrak dan fraksi dituangkan ke dalam satu sumur, selain itu dibuat juga sumur untuk kontrol positif dan kontrol negatif. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif dan

chloramphenicol (25 mg/mL) digunakan sebagai kontrol positif. Kultur bakteri *Staphylococcus aureus*, masing-masing diambil satu ose kemudian di gores pada media tersebut. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Aktivitas antibakteri dihitung berdasarkan DIZ (*diameter of inhibition zone*). Pengujian dilakukan dalam 3 kali ulangan.

Analisis Profil Kimia dengan HPLC

Analisis profil kimia ekstrak dan fraksi bunga kecombrang diawali dengan melarutkan ekstrak dan fraksi bunga kecombrang dalam DMSO dengan konsentrasi 0,8 µg/mL dan divorteks. Sebanyak 1 mL larutan ekstrak dan fraksi bunga kecombrang disaring dengan penyaring *regenerated membrane* dan ditransfer ke vial. Sampel selanjutnya disuntikkan ke dalam HPLC sebanyak 40 µL. HPLC yang digunakan adalah HPLC Perkin Elmer Series 200 dengan Detektor UV-VIS 785A dengan kolom C18, 4 µm, 150x3,9 mm. Ekstrak diukur pada panjang gelombang 250 nm, 270 nm, 290 nm, 310 nm, 330 nm, dan 350 nm. HPLC dioperasikan pada suhu ruang dengan laju alir 1 mL/menit. Fase gerak yang digunakan adalah fase gerak A 90 % larutan asam asetat 0,1 % sebanyak dan fase gerak B 10 % asetonitril. Elusi dilakukan secara gradien dalam waktu 25 menit.

Hasil kromatogram ekstrak dan fraksi dengan data serapan UV (250 nm, 270 nm, 290 nm, 310 nm, 330 nm, dan 350 nm) pada waktu-waktu retensi dikorelasikan dengan aktivitas antibakteri yang diketahui. Kromatogram yang dihasilkan dari 3 kali ulangan ekstrak E (etanol), fraksi K (kloroform), dan fraksi A (air) dengan 6 serapan UV adalah sebanyak 54 kromatogram. Data profil kimia dari kromatogram ditunjukkan dengan selang waktu retensi setiap 0,16 menit. Data profil kimia akan dikorelasikan dengan data aktivitas antibakteri menggunakan analisis OPLS.

Analisis Orthogonal Projection to the Least Square (OPLS)

Analisis OPLS akan menunjukkan beberapa plot seperti *score plot*, *Y related coefficient plot*, dan *X varian plot* dengan menggunakan software SIMCA (v.13.01). *Score plot* akan menunjukkan plot pengelompokan ekstrak dan fraksi berdasarkan aktivitas antibakterinya. Dua matriks dari data selang waktu retensi dan data aktivitas antibakteri akan dilihat korelasinya dengan menggunakan *Y related coefficient plot*. Korelasi signifikan ditunjukkan dengan nilai *Y related coefficient* yang lebih besar dari 0.5 (Eriksson *et al.*, 2001). Selang waktu retensi yang signifikan aktivitasnya akan dilihat penyebaran area puncaknya pada berbagai ekstrak dan fraksi dengan menggunakan *X varian plot*. Berdasarkan plot tersebut dapat diketahui pada ekstrak dan fraksi bunga

kecombrang yang mana yang memiliki area puncak terbesar, hal ini mengindikasikan adanya mempunyai komponen aktif. Ekstrak atau fraksi tersebut dapat diidentifikasi waktu retensi komponen aktif yang memberikan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstraksi 150 g tepung bunga kecombrang dengan menggunakan etanol menghasilkan ekstrak E (etanol) berupa gum berwarna coklat (3,80 g). Hasil fraksinasi hanya diperoleh 0,2 g dari fraksi K (kloroform) dan 5 g dari fraksi A (air). Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi bunga kecombrang yang ditunjukkan pada Tabel 1. Daya hambat (DIZ) pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 500 mg/mL diketahui hanya ada pada fraksi kloroform dengan rata-rata penghambatan sebesar 3,78 mm. Kloramfenikol dengan konsentrasi 25 mg/mL menunjukkan daya hambat yang sangat besar sebesar 8,34 mm dan DMSO tidak menunjukkan adanya penghambatan. Penggunaan DMSO sebagai kontrol negatif juga dilakukan oleh Ghasemzadeh *et al.* (2015), Susanti *et al.* (2013), dan Abdelwahab *et al.* (2010).

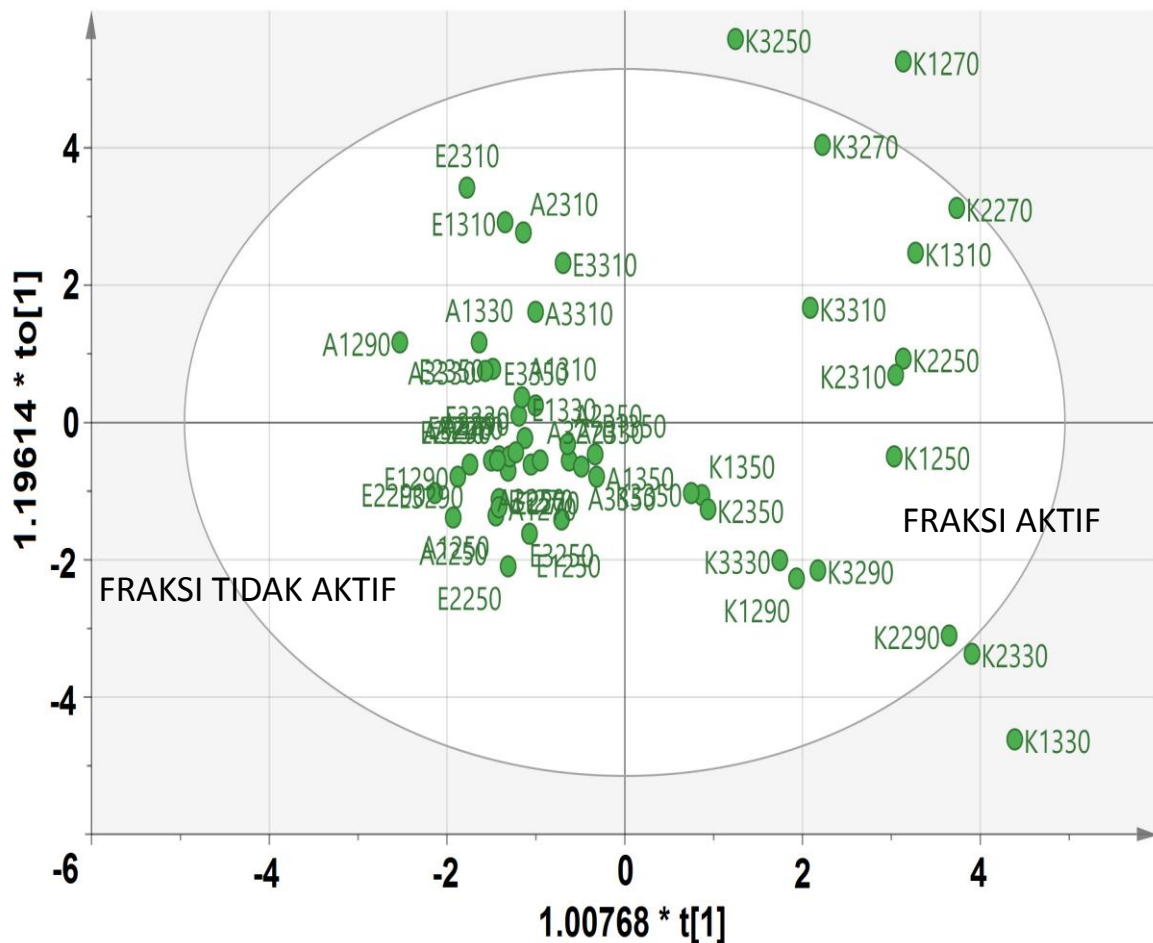
Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi bunga kecombrang.

Sampel	Ulangan	Diameter penghambatan (mm*)
Ekstrak Etanol	U1	-
	U2	-
	U3	-
Fraksi Kloroform	U1	4,17 ± 0,25
	U2	4,50 ± 0,50
	U3	2,67 ± 0,35
Fraksi Air	U1	-
	U2	-
	U3	-
Kloramfenikol (Kontrol Positif)	U1	8,50 ± 0,50
	U2	7,76 ± 0,25
	U3	8,84 ± 0,32
DMSO (Kontrol Negatif)	U1	-
	U2	-
	U3	-

*Catatan: nilai rata-rata ± SD diperoleh dari 3 pengambilan nilai.

Penelitian Susanti *et al.* (2013) menunjukkan bahwa konsentrasi 10 µL ekstrak bunga kecombrang dapat memberikan daya hambat sebesar 3 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Ghasemzadeh *et al.* (2015), ekstrak bunga kecombrang

Kelantan pada konsentrasi 10 mg/mL memberikan daya hambat sebesar 8,4 mm, pada konsentrasi yang sama ekstrak bunga kecombrang Johor memberikan daya hambat sebesar 4,0 mm, dan ekstrak bunga kecombrang Pahang memberikan daya hambat sebesar 9,2 mm. Perbedaan pada kondisi cuaca atau gizi dan jenis tanah tempat tumbuhnya kecombrang dapat mempengaruhi konsentrasi dan jenis komponen penyusun aktif pada bunga kecombrang (Ghasemzadeh *et al.*, 2015). Hal ini dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas penghambatan ekstrak bunga kecombrang pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu, penelitian Abdelwahab *et al.* (2010) juga menunjukkan adanya aktivitas penghambatan dari ekstrak seluruh bagian tanaman kecombrang pada konsentrasi 100 mg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 4,5 mm.



Gambar 1. Score plot pada berbagai ekstrak dan fraksi yang aktif ditunjukkan pada bagian kanan dan fraksi yang tidak aktif ditunjukkan pada bagian kiri.

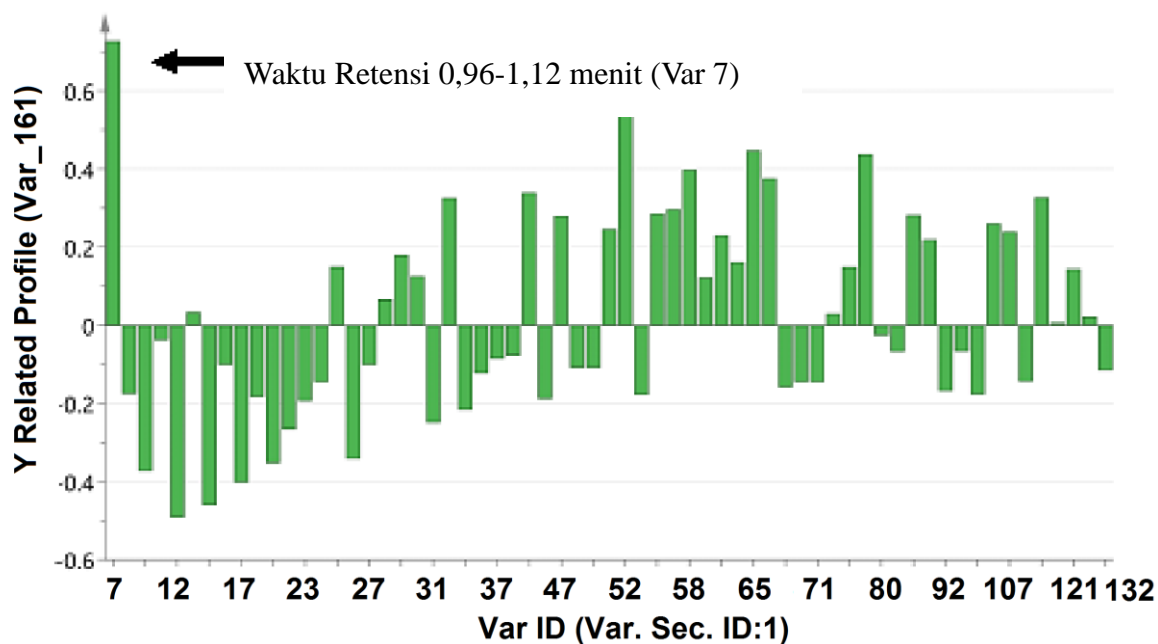
Analisis *Orthogonal Projection to the Least Square* (OPLS)

Kromatogram hasil analisis HPLC didapatkan sebanyak 54 kromatogram dari 3 kali ulangan ekstrak E (etanol), fraksi K (kloroform), dan fraksi A (aquades) pada panjang

gelombang 250 nm, 270 nm, 290 nm, 310 nm, 330 nm, dan 350 nm. Pada analisis OPLS, matriks data X menunjukkan komposisi kimia sampel dan dikorelasikan dengan aktivitas antibakteri (matriks data Y). Pada software SIMCA (v.13.01), digunakan *score plot*, *Y-related coefficient plot*, dan *X Varian plot* untuk menginterpretasikan hasilnya.

Score plot digunakan untuk mengklasifikasikan sampel berdasarkan karakteristik yang diberikan oleh matriks data Y (aktivitas antibakteri). Pemisahan sampel antara yang memiliki aktivitas rendah dan yang tinggi akan memudahkan dalam mengidentifikasi waktu retensi komponen bioaktif. Pada Gambar 1, menunjukkan *score plot* yang aktif dan non aktif dengan semakin positif nilai X-nya.

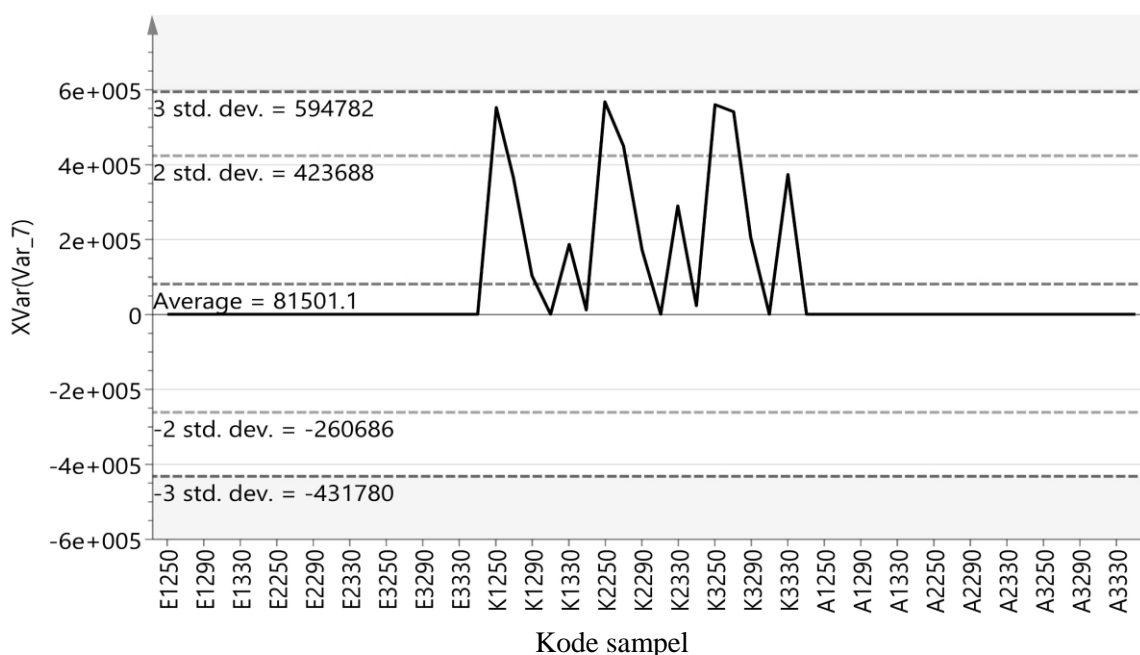
Selanjutnya, *Y related coefficient plot* digunakan untuk mengetahui korelasi waktu retensi yang positif dan tinggi dari matriks data Y. Korelasi signifikan ditunjukkan dengan *Y related coefficient* yang bernilai lebih dari 0,5 (Eriksson *et al.*, 2001). Pada Gambar 2, menunjukkan *Y related coefficient plot* untuk waktu retensi 0,96 - 1,12 menit ditemukan paling tinggi sebesar 0,73.



Gambar 2. *Y related coefficient plot* pada selang waktu retensi 0,96 - 1,12 menit (Var 7) terhadap aktivitas antibakteri (DIZ). Nilai koefisien relatif Y positif menunjukkan selang waktu retensi berkorelasi terhadap aktivitas antibakteri.

Analisis selanjutnya, *X varian plot* digunakan untuk mengidentifikasi area puncak ekstrak atau fraksi yang dominan. Diketahui, pada fraksi kloroform bahwa panjang gelombang 250 nm adalah fraksi yang paling dominan (Gambar 3). Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa waktu retensi komponen bioaktif 0,96 - 1,12 menit pada panjang gelombang 250 nm dari fraksi kloroform adalah yang paling berkorelasi signifikan dengan

aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Waktu retensi inilah yang selanjutnya dapat digunakan untuk mengidentifikasi komponen antibakteri antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada bunga kecombrang.



Gambar 3. X varian plot menunjukkan penyebaran peak area pada selang waktu retensi 0,96 - 1,12 menit pada ekstrak dan bunga kecombrang pada berbagai ulangan dan serapan UV. Penyebaran luas area pada fraksi kloroform.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aplikasi metabolomik berbasis HPLC dapat secara cepat digunakan untuk mengidentifikasi komponen aktif dari ekstrak dan fraksi tanaman. Uji aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya daya hambat (DIZ) pada fraksi kloroform rata-rata sebesar 3,78 mm dengan konsentrasi 500 mg/mL. Hasil analisis OPLS menunjukkan bahwa komponen yang diduga memiliki aktivitas antibakteri, yaitu komponen yang berkorelasi signifikan terhadap profil kimia ekstrak dan fraksi bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) adalah area puncak pada waktu retensi 0,96 - 1,12 menit dengan serapan UV $\lambda = 250$ nm dari fraksi kloroform. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk mengidentifikasi lebih lanjut komponen bioaktif dan mengisolasinya dengan cara yang lebih efisien.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana didanai oleh Dana Non PNBP Universitas Sumatera Utara Tahun Anggaran 2016, sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Dalam Rangka Pelaksanaan Penelitian Bidang Keunggulan Akademik (TALENTA) Universitas Sumatera Utara Tahun Anggaran 2016 Nomor: 6051/UN5.1.R/PPM/2016, tanggal 19 Juli 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelwahab, S.I., Zaman, F.Q., Mariod, A.A., Yaacob, M., Abdelmageed, A.H.A., and Khamis, S., 2010. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of the essential oils of *Etlingera elatior* and *Cinnamomum pubescens* Kochummen. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 2682–2668.
- Choi, M-Y., Chai, C., Park, J.H., Lim, J., Lee, J., and Kwon, S.W., 2011. Effects of storage period and heat treatment on phenolic compound composition in dried Citrus peels (Chenpi) and discrimination of Chenpi with different storage periods through targeted metabolomic study using HPLC-DAD analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 54, 638–645.
- Clinical Laboratory Standards Institute, 2008. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard-third edition. *M31-A3* 28 (8).
- Eriksson, L., Johansson, E., Kettaneh-Wold, N., and Wold, S., 2001. *Multi-and megavariate data analysis*. Umeå, Umetrics.
- Food and Drugs Administration, 2010. *Guidance for FDA Staff. Compliance Policy Guide Sec. 527.300 Dairy Products - Microbial Contaminants and Alkaline Phosphatase Activity*. <<http://www.fda.gov/>>. (diakses pada 15 Maret 2016).
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., Rahmat, A., and Ashkani, S., 2015. Secondary metabolites constituents and antioxidant, anticancer and antibacterial activities of *Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm grown in different locations of Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15, 335.
- Hall, R.D., 2006. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. *New Phytologist* 169, 453-468.
- Khaw, S.H., 2001. The Genus *Etlingera* (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia Including a New Species. *Gardens' Bulletin Singapore* 53, 191-239.
- Lachumy, S.J.T., Sasidharan, S., Sumathy, V., and Zuraini, Z., 2010. Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etlingera elatior* (torch ginger) flowers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 3, 769-774.
- Maser, W.H., Yuliana, N.D., and Andarwulan, N., 2015. Rapid identification of antibacterial compounds from turkey berry by HPLC-based metabolomics. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 38 (12), 1230-1235.

- Naufalin, R., Jenie, B.S.L., Kusnandar, F., Sudarwanto, M., and Rukmini, H., 2005. Aktivitas antibakteri ekstrak bunga kecombrang terhadap bakteri patogen dan perusak pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 16 (2), 119-125.
- Syamsuhidayat, S.S., and Hutapea, J.R., 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Edisi I, 440-441.
- Susanti, D., Awang, N.A., Qaralleh, H., Mohamed, H.I.S., and Attoumani, N., 2013. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil of Malaysian *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith Flowers. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 16 (2), 294 – 299.
- Wijekoon, M.M.J.O., Bhat, R., Karim, A.A., and Fazilah, A., 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil and solvent extracts of torch ginger inflorescence (*Etilingera elatior* Jack.). *International Journal of Food Properties* 16, 1200–1210.
- Yuliana, N.D., Alfi, K., Robert, V., and Young, H.C., 2011a. Comprehensive Extraction Method Integrated with NMR Metabolomics: A new bioactivity screening method for plants, adenosine A1 receptor binding compounds in *Orthosiphon stamineus* Benth. *Journal of Analytical Chemistry* 83, 6902–6906.
- Yuliana, N.D., Alfi, K., Young, H.C., and Robert, V., 2011b. Metabolomics for bioactivity assessment of natural products. *Phytotherapy Research* 25 (2), 157-69.