

LAPORAN
PENELITIAN PENGUATAN PROGRAM STUDI
SKRINING FITOKIMIA, ANTIOKSIDAN DAN ANTIMIKROBA *Curcuma mangga*
rhizome UNTUK KESUBURAN WANITA

Oleh:

Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, MSi
NIP. 197109192000032001



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

2014

LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN PENELITIAN

**SKRINING FITOKIMIA, ANTIOKSIDAN DAN ANTIMIKROBA *Curcuma mangga*
rhizome UNTUK KESUBURAN WANITA**

Judul Penelitian :Skrining Fitokimia, Antioksidan dan Antimikroba *Curcuma mangga*
Rhizome untuk Kesuburan Wanita

Bidang Keilmuan : Biofarmaka

Jurusan : Biologi

Lama Kegiatan : 6 bulan

Biaya yang diusulkan : Rp. 12.500.000

Malang, 10 November 2014

Menyetujui,
Ketua Jurusan



Dr. Evika Sandi Savitri
NIP. 19741018 200312 2 002

Ketua Pengusul,



Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, MSi
NIP. 197109192000032001

Mengetahui
Ketua LPPM UIN Maulana Malik Ibrahim



Dr. Hj. Mufidah Ch., M.Ag.
NIP. 196009101989032001

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan	9
1.4 Hipotesis	9
1.5 Manfaat	9
1.6 Batasan Masalah.....	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	11
2.1.1 Morfologi Tanaman Temu Mangga	11
2.1.2 Taksonomi Tanaman Temu Mangga	15
2.1.3 Habitat Tanaman Temu Mangga	16
2.1.4 Kandungan dan Manfaat Tanaman Temu Mangga	17
2.2 Ekstraksi.....	19
2.3 Aktivitas Antioksidan	23
2.3.1 Mekanisme Senyawa Antioksidan	24
2.3.2 Pengujian Aktifitas Antioksdian dengan Metode DPPH.....	27
2.4 Aktivitas Antifungi	29
2.4.1 Uji Aktivitas Antifungi Secara <i>In Vitro</i>	30
2.5 <i>Candida albicans</i>	31
2.5.1 Klasifikasi <i>Candida albicans</i>	32
2.5.2 Morfologi <i>Candida albicans</i>	32
2.5.3 Struktur Fisik <i>Candida albicans</i>	34
2.5.4 Jenis Antifungi dan Mekanisme Antifungi terhadap <i>Candida albicans</i>	35
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	38
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian.....	38
3.3. Variabel Penelitian	39
3.3.1 Variabel Bebas.....	39
3.3.2 Variabel Terikat	39
3.3.3 Variabel Terkendali.....	39
3.4 Alat dan Bahan.....	40
3.4.1 Alat.....	40
3.4.2 Bahan.....	40

3.5	Prosedur Penelitian	41
3.6	Pelaksanaan Penelitian	41
3.6.1	Preparasi Sampel.....	41
3.6.2	Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi	43
3.6.3	Uji Aktivitas Antioksidan.....	45
3.6.3.1	Penentuan λ Maksimum	45
3.6.3.2	Penentuan Waktu Kestabilan	45
3.6.3.3	Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel	45
3.6.4	Uji Aktivitas Antifungi.....	46
3.6.4.1	Sterilisasi Alat	46
3.6.4.2	Pembuatan Media	47
3.6.4.3	Peremajaan Biakan	47
3.6.4.4	Pembuatan Suspensi	48
3.6.3.5	Uji Aktifitas Antifungi	48
3.6.3.5.1	Metode Difusi	48
3.6.3.5.2	Penentuan KHM dan KBM	49
3.7	Analisis Data.....	51
3.7.1	Uji Aktivitas Antioksidan.....	51
3.7.2	Uji Aktivitas Antifungi.....	52

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Aktivitas Antioksidan Ekstrak Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.) Secara <i>In Vitro</i>	53
4.2	Aktivitas Antifungi Ekstrak Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.) terhadap <i>Candida albicans</i> secara <i>In Vitro</i>	66
4.3	Potensi Aktivitas Antioksidan dan Antifungi Ekstrak Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	77

BAB V PENUTUP

4.1	Kesimpulan.....	81
4.2	Saran.....	81

DAFTAR PUSTAKA.....	82
----------------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan beberapa pelarut dalam air	22
Tabel 2.2	Nilai IC ₅₀ dan Kategori Aktivitas Antioksidan.....	29
Tabel 4.1	Perubahan Warna Ekstrak dan Perbandingan	55
Tabel 4.2	Hasil Absorbansi	56
Tabel 4.3	Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Perbandingan.....	57
Tabel 4.4	Hasil Regresi dan Nilai IC ₅₀	58
Tabel 4.5	Rerata Diameter Zona Hambat.....	68
Tabel 4.6	Perhitungan Koloni yang Tumbuh pada SDA.....	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	14
Gambar 2.2 Rimpang Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	15
Gambar 2.3 Reaksi Penghambatan Antioksidan Primer Terhadap Lipida	26
Gambar 2.4 Reaksi Penghambatan Antioksidan Antar Radikal Antioksidan	26
Gambar 2.5 Struktur DPPH dan DPPH Tereduksi	29
Gambar 2.6 Morfologi <i>Candida albicans</i>	32
Gambar 4.1 Grafik Aktivitas Antioksidan	58
Gambar 4.2 Nilai IC ₅₀ Ekstrak dan Vitamin C.....	59
Gambar 4.3 Reaksi DPPH dan Senyawa Alkaloid	62
Gambar 4.4 Reaksi DPPH dengan Vitamin C.....	64
Gambar 4.5 Tingkat Kekeruhan Metode Mikrodilusi.....	70
Gambar 4.6 Ilustrasi pemisahan senyawa triterpenoid	83

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Alur Penelitian	93
Lampiran 2	Langkah Kerja	94
Lampiran 3	Pehitungan	101
Lampiran 4	Hasil Antioksidan	103
Lampiran 5	Hasil Antifungi	120
Lampiran 6	Dokumentasi Penelitian	121

ABSTRAK

Rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) telah banyak digunakan untuk menanggulangi masalah kesehatan di Indonesia. Rimpang temu mangga telah digunakan sebagai salah satu bahan ramuan jamu subur kandungan Madura. Komponen senyawa aktif di dalam ekstrak temu mangga berpotensi sebagai obat infertilitas wanita. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antifungi ekstrak rimpang temu mangga dalam pelarut etanol p.a., kloroform p.a., dan n-heksan p.a.

Rimpang temu mangga diekstraksi menggunakan metode maserasi tunggal. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan konsentrasi ekstrak 25 ppm; 50 ppm; 100 ppm; 200 ppm dan 400 ppm. Uji aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* dilakukan dengan metode difusi dengan konsentrasi 100% dan metode mikrodilusi dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78% dan 0,39% .

Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan diketahui nilai IC_{50} ekstrak etanol, kloroform, n-heksan secara berturut-turut adalah 99,33 ppm (kategori aktif); 119,3 ppm (kategori sedang) dan 192,1 ppm (kategori sedang). Hasil uji antifungi terhadap *Candida albicans* didapatkan zona hambat ekstrak etanol, kloroform dan n-heksan ekstrak terhadap jamur *Candida albicans* berturut-turut adalah 5,172 mm; 1,780 ppm dan 3,343 mm . Nilai KHM seluruh ekstrak adalah 0,78% v/v sedangkan nilai KBM nya sebesar 1,56% v/v. Perbedaan nilai aktifitas antioksidan dan antifungi disebabkan oleh kandungan senyawa aktif dalam masing-masing ekstrak.

Kata Kunci: Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.), Antioksidan, Antifungi, DPPH, *Candida albicans*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Infertilitas adalah kegagalan untuk mencapai kehamilan setelah 12 bulan atau lebih dari hubungan seksual tanpa kontrasepsi (Pages, 2013). Organisasi kesehatan dunia (WHO) menyatakan bahwa jumlah pasangan infertil sebanyak 36% diakibatkan adanya kelainan pada pria, sedangkan 64% berada pada wanita (WHO, 2011). Salah satu penyebab infertilitas yang menyerang wanita adalah Infeksi Saluran Reproduksi (ISR). Qomariah (2002) memaparkan bahwa Infeksi Saluran Reproduksi (ISR) merupakan masalah kesehatan dunia yang dampaknya bersifat kemandulan, kehamilan ektopik, abortus, ketuban pecah dini, peningkatan resiko tertular HIV bahkan kematian.

Konsultasi yang tepat dengan seorang dokter yang berusaha secara sistematis mencari penyebab keputihan tersebut dan mengupayakan pengobatan yang tepat adalah upaya yang dapat dilakukan. Sebagai seorang muslim kita wajib mengetahui bahwa perihal berobat sudah disampaikan dalam sebuah hadist riwayat Ibnu Mas'ud, bahwa Rasulullah pernah bersabda:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمَهُ مَنْ عِلِمَهُ وَجَهْلَهُ مَنْ
جَهْلَهُ

“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.” (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim, beliau mensahihkannya dan disepakati oleh Adz-Dzahabi, Al-Bushiri mensahihkan hadist ini dalam Zawa'id-nya. Lihat Takhrij Al-Amauth atas Zadul Ma'ad, 4.12-13).

Hadist di atas menjelaskan bahwa bukan berarti tidak ada cara lain yang bisa digunakan untuk mengatasi infertilitas. Dalam hal ini Tugas ilmuwan muslim adalah mengembangkan ilmu pengetahuan dengan meyakini bahwa permasalahan terkait infertilitas juga dapat diatasi.

Infertilitas dapat diperbaiki dengan obat-obatan kimia, obat-obatan alternatif dan fisioterapi (Gaware *et al.*, 2009), namun hal ini tidak selalu menghasilkan kehamilan dan kelahiran bayi dalam keadaan hidup. (Ried, 2012). Supohardjo (2004) menyatakan bahwa di negara-negara maju yang secara luas telah menggunakan obat-obatan modern, akhir-akhir ini terdapat kecenderungan untuk menggunakan obat-obatan tradisional dan obat-obatan dari tumbuhan. Bahkan, WHO merekomendasi penggunaan obat herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker.

Indonesia merupakan negara terkaya kedua akan keanekaragaman hayati (*The Second Megabiodiversity*), di antaranya adalah kekayaan tumbuhan obat (Sinaga *et al.*, 2011). Selain keanekaragaman hayati yang besar, Indonesia juga memiliki keragaman budaya dan etnis dimana kurang lebih 400 kelompok etnis masyarakat Indonesia memiliki ketergantungan dengan tumbuhan obat khususnya etnis Madura (Zuhud, 2003). Masyarakat etnis Madura memiliki kekayaan pengetahuan tradisional yang berkaitan dengan keharmonisan suami istri (Handayani, 2000) yang di kenal dengan jamu “Subur Kandungan”. Jamu ini menggunakan rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga*) sebagai salah satu bahan dasarnya. Bahan tersebut diduga dapat menjawab solusi permasalahan

infertilitas pada wanita. Kandungan fitokimia, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antimikroba yang ada dalam Temu Mangga sebagai penyusun ramuan tersebut diduga menjadi faktor penting dalam mengobati infertilitas dan meningkatkan fertilitas wanita.

Temu Mangga terbukti mengandung senyawa antioksidan, diantaranya kalkon, flavon, flavanon yang cenderung larut dalam air (Lajis, 2007; Suryani, 2009). Senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan dalam tanaman dapat diperoleh melalui proses ekstraksi dimana umumnya menggunakan 3 jenis pelarut yaitu n-heksana (nonpolar), kloroform (semipolar) dan etanol (polar). Perbedaan jenis pelarut ini akan mempengaruhi karakteristik dari senyawa bioaktif yang terdapat pada Temu Mangga yang dimungkinkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Pengujian terhadap aktivitas antioksidan dalam ekstrak Temu Mangga diharapkan dapat menjadi parameter dalam pengobatan infertilitas. Salah satu metode untuk mengukur besar aktivitas antioksidan dari suatu senyawa atau ekstrak adalah dengan menggunakan senyawa 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dengan spektrofotometri karena merupakan metode yang sederhana, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani, 2005).

Salah satu parameter penting dibidang kesehatan reproduksi adalah pencegahan terhadap infeksi mikroorganisme (Subandi, 2010). Oleh karena itu selain aktivitas antioksidan, parameter penting dalam skrining obat untuk infertilitas adalah aktivitas antifungi. Hal tersebut dikarenakan penyebab lain yang

dapat memicu terganggunya fertilitas seorang wanita adalah aktivitas jamur patogen. Salah satu keluhan yang dijumpai pada wanita adalah keputihan sebanyak 16%, yang tergolong Candida 53%, Trichomonas 3,1% dan yang tergolong oleh Bakteri 40,1%. Candida merupakan kelompok yang paling umum ditemukan pada penderita keputihan (Depkes, 2005).

Infeksi merupakan penyebab utama infertilitas yang dapat dicegah dan diobati jika penanganan lebih dini. Temu-temuan diantaranya Temu Mangga ini sering digunakan dalam pengobatan tradisional (Hernani, 2002) diantaranya mengobati keputihan, diare, obat jerawat dan gatal-gatal (Rukmana, 2004). Chen *et al.*, (2008) menyatakan kandungan senyawa dalam temu putih dan kunyit mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*.

Respon daya hambat pertumbuhan jamur patogen yang dihasilkan dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam rimpang Curcuma seperti minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tanin, kurkuminoid dan terpenoid (Rukmana, 2004). Selanjutnya juga dilakukan uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum), yaitu konsentrasi antibakteri minimum yang dapat menghasilkan pertumbuhan bakteri terkecil, dengan demikian dapat memanfaatkan rimpang Temu Mangga sebagai bahan pengobatan infertilitas.

Penelitian ini dilakukan karena belum ditemukan informasi secara spesifik mengenai kemampuan ekstrak rimpang Temu Mangga dalam berbagai pelarut organik yang paling efektif dalam menghambat jamur pathogen uji serta aktivitas antioksidannya. Hal tersebut dikarenakan pemilihan pelarut penting

dalam proses pemisahan senyawa aktif dalam langkah awal proses standarisasi obat tradisional. Hasil dari penelitian ini diharapkan menjadi langkah awal untuk proses standarisasi jamu Madura yang berkhasiat pada kesuburan, sehingga pengobatan tradisional bisa diterima dalam system pengobatan modern dan mampu meningkatkan kesehatan masyarakat.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat ditarik rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) dengan metode skrining fitokimia?
2. Apakah ada pengaruh ekstrak rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) dalam beberapa pelarut terhadap aktivitas antioksidan melalui metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)?
3. Apakah ada pengaruh ekstrak rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) dalam beberapa pelarut terhadap aktivitas antifungi terhadap jamur *Candida albicans*?

1.3. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) dengan metode skrining fitokimia.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) dalam beberapa pelarut organik.

3. Mengetahui aktivitas antifungi ekstrak rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) terhadap jamur *Candida albicans*.

1.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian adalah

1. Terdapat aktivitas antioksidan ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) dalam beberapa pelarut organik.
2. Terdapat aktivitas antifungi ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) terhadap jamur *Candida albicans*.

1.5. Manfaat

Manfaat yang dapat diperoleh yaitu:

1. Sebagai sumber informasi bagi mahasiswa, peneliti dan masyarakat umum dalam memanfaatkan tanaman obat.
2. Sebagai sumber informasi ilmiah tentang potensi bahan alam *Curcuma mangga* yang digunakan sebagai bahan utama “jamu subur kandungan” asli Madura.
3. Sebagai sumbangan kepada *stakeholder* (pemangku kepentingan) dan para peneliti khususnya pemerintah Madura dan akademisi tentang potensi tumbuhan obat dan jamu Madura sebagai produk unggulan lokal.
4. Sebagai dasar riset selanjutnya tentang pelarut terbaik yang dapat digunakan dalam ekstraksi rimpang Temu mangga sebagai dasar standarisasi obat tradisional.

1.6. Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) dalam penelitian ini diperoleh dari UPT. Materia Medica, Batu.
2. Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) diekstrak menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana (nonpolar), kloroform (semipolar) dan etanol (polar).
3. Metode pengujian aktivitas antioksidan yang digunakan adalah metode spektrofotometri menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).
4. Mikroba saluran reproduksi wanita yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida albicans*. Isolat jamur didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
5. Metode uji aktivitas antimikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi dengan *blank disk paper* (kertas cakram) dan metode mikrodilusi untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM).
6. Bahan pelarut ekstrak rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) adalah PEG 400 (Polietilen Glikol) dan Emulsifier Tween 80%

BAB II

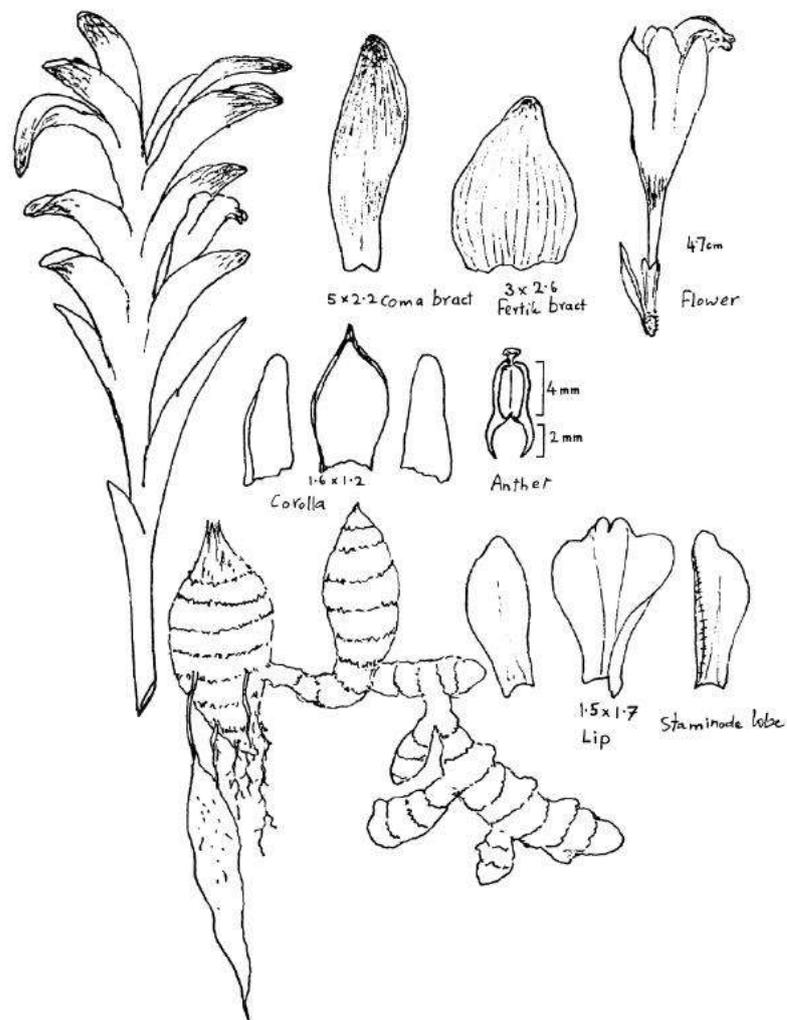
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

2.1.1. Morfologi Tanaman Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

Temu Mangga (*Curcuma mangga*) termasuk tahunan dengan habitus semak (Newman *et al.*, 2004) yang tingginya sekitar 50 sampai 75 cm. bagian tubuh temu Mangga interdiri dari rimpang, akar, batang, daun dan bunga (Gambar 2.1.) Ciri khas tanaman ini adalah pada rimpangnya yang memiliki bau khas seperti mangga. Rimpang temu manga mempunyai rasa manis dengan sedikit pahit (Sudewo, 2006).

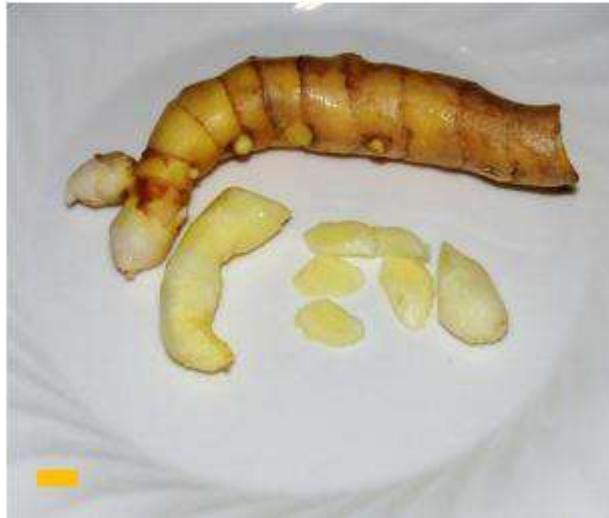
Akar temu manga berbentuk serabut dengan panjang 25 cm dan letaknya tidak beraturan. Diatas rimpang tumbuh batang semu yang berbentuk tegak, lunak, dan berwarna hijau. Akar melekat dan keluar dari rimpang induk. Susunan daun tunggal, berpelelah, lonjong, tepi rata, ujung dan pangkal meruncing, panjang \pm 1 m, lebar 10-20 cm, pertulangan menyirip, hijau. Pelelah daun panjang 30-65 cm, daun lonjong-menjorong sampai lonjong-melanset sungsang, 15-95 cm x 5-23 cm, hijau; Daunnya berbentuk bulat agak lonjong dengan panjang daun sekitar 30 sampai 45 cm dan lebarnya 7,5 sampai 13 cm (Sudewo, 2006).



Gambar 2.1. Morfologi Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) (Velayudhan *et al.*, 1999)

Bunga Kunir putih muncul dari bagian ujung batangnya. Pembungaan pada tunas yang tersendiri, daun gagang hijau, daun gagang yang menyerupai bunga (*coma bracts*) putih di bagian dasar, ungu ke arah atas; Mahkota: panjang 3-4 cm, putih; labellum (bibir bunga) 15-25 mm x 14-18 mm, putih dengan pita tengah kuning, staminodes yang lain lipatan membujur, putih, Kepala sari panjang, dengan taji sempit terbelah, benang sari menempel pada mahkota, putih,

putik silindris, kepala putik bulat, kuning, mahkota lonjong, putih. Buah: Kotak, bulat, hijau kekuningan. sedangkan bijinya: bulat dan coklat (Sudewo, 2006).



Gambar 2.2. Rimpang Temu Mangga (Garis oranye merepresentasikan 1 cm)

2.1.2. Taksonomi Tanaman Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val)

Taksonomi tanaman Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val) adalah sebagai berikut :

Kingdom; Plantae

Sub Kingdom; Tracheobionta

Super Divisi; Spermatophyta

Divisi; Magnoliophyta

Kelas; Liliopsida

Sub Kelas; Zingiberidae

Bangsa; Zingiberales

Suku; Zingiberaceae

Marga; Curcuma

Jenis; *Curcuma mangga* Val (Bisby, 2007)

Nama lain *Curcuma mangga* Val diantaranya Temu Mangga, Kunyit Putih, Kunir Putih, Temu Bayangan, Temu Poh (Jawa) Temu Pauh (Malaysia),

Kha Min Khao (Thailand), Temu Pao (Madura), Temu Mangga, Temu Putih (Melayu), Koneng Joho, Koneng Lalap, Koneng Pare, Koneng lalab (Sunda) (Hariana, 2006).

2.1.3. Habitat Tanaman Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val)

Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val) merupakan salah satu jenis temu yang tumbuh di Indonesia. Selain di Indonesia, Temu Mangga juga dijumpai di daerah sekitar ekuatorial lainnya seperti Malaysia (dikenal dengan sebutan temu pauh) dan Thailand (kha min khao) (Tedjo, 2005). Penyebaran yang diketahui dari tanaman ini adalah ditanam (dikultivasi) di Thailand, Semenanjung Malaysia dan Jawa. Temu Mangga dikultivasi di tanah yang subur, dengan ketinggian di atas 1000 m dpl. Habitus: Semak, tinggi 1-2 m. Cara pembiakan tanaman ini adalah dengan rimpang atau anakan rimpang yang telah berumur 9 bulan. pembiakan dengan rimpang muda akan mudah terserang penyakit. Tanaman ini tumbuh subur jika ditanam di media tanam atau tanah gembur yang mengandung bahan organik tinggi dan sinar matahari yang cukup atau di tempat yang terlindung (Policegoudra & Aradhya, 2007).

Temu Mangga seperti halnya temu-temuan lain dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik di dataran rendah sampai pada ketinggian 1000 m di atas permukaan air laut, dan ketinggian optimum 300-500 m. Kondisi iklim yang sesuai untuk budidaya Temu Mangga yaitu dengan curah hujan 1000-2000 mm (Gusmaini *et al.*, 2004). Tumbuh pada berbagai jenis tanah, untuk menghasilkan produksi yang maksimal membutuhkan tanah dengan kondisi yang subur, banyak bahan organik, gembur dan berdrainase baik (tidak tergenang) (Sudiarto *et al.*,

1998). Temu Mangga merupakan tanaman asli daerah Indo-Malesian yaitu di daerah tropis dan subtropis India. Adapun penyebarannya dari Indo-China, Taiwan, Thailand, Pasifik hingga Australia Utara (Ibrahim *et al.*, 1999).

2.1.4. Kandungan dan Manfaat Tanaman Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

Berbagai tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena didalamnya mengandung sejumlah zat aktif yang mampu bekerja untuk memperbaiki kondisi tubuh yang sakit. Salah satu contohnya adalah tanaman Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.). Temu Mangga berkhasiat sebagai penurun panas (antipiretik), penangkal racun (antitoksik), pencahar (laksatif), dan antioksidan. Khasiat lainnya untuk mengatasi kanker, sakit perut, mengecilkan rahim setelah melahirkan, mengurangi lemak perut, menambah nafsu makan, menguatkan syahwat, gatal-gatal pada vagina, gatal-gatal (*pruritis*), luka, sesak napas (asma), radang saluran napas (*bronkitis*), demam, kembung, dan masuk angin (Hariana,2006).

Komponen utama rimpang Temu Mangga atau kunir putih yang ditemukan sejauh ini adalah mirsene (81,4%), Minyak asiri (0,28%), dan kurkuminoid (3%). Untuk komponen utama minyak atsiri Temu Mangga adalah golongan monoterpen hidrokarbon, dengan komponen utamanya mirsen (78,6%), β -osimen (5,1%), β -pinen (3,7%) dan α -pinen (2,9%) (Wong *et al.*, 1999), dan senyawa yang memberikan aroma seperti mangga adalah δ -3-karen dan (Z)- β -osimen (Hernani, 2001).

Kandungan kimia lainnya curcumanggoside, bersama dengan sembilan senyawa yang dikenal, termasuk labda-8, 12-diena-15,16-dial, calcaratarin A, zerumin B, scopoletin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, curcumin, dan asam p-hydroxycinnamic yang telah diisolasi dari rimpang *Curcuma mangga* (Abas *et al.*, 2005). Demethoxycurcumin, dan Bisdemethoxycurcumin. Dari fraksi heksana dan etil asetat menghasilkan isolasi dari tujuh senyawa murni, yaitu (E)-labda-8,12-dien-15,16-dial, (E)-15,16-bisnor-labda-8, 11-dien-13- pada, zerumin A dan β -sitosterol (Malek, 2011). Selain itu dari beberapa hasil isolasi tanaman Temu Mangga didapatkan senyawa yaitu 8,12-epoxygermacra-1(10), 4,7,11-tetraen-6-one (1), 8,12-epoxygermacra-1(10), 4,7,11-tetraene (2), cyclohexanecarboxylic acid methyl ester (3), isopulegol (4), 2-menthen-1-ol (5), menth-1-en-9-ol (6), octahydrocurcumin (7), labda-8(17)-12-diene-15, 16-dial (8), and coronadiene (9) (Liu, 2012).

Temu Mangga mengandung bahan aktif triterpenoid saponin. Dalam kajian fertilitas, komposisi triterpenoid saponin ini sangat dibutuhkan untuk melindungi sel-sel granulosa. Hal tersebut dikarenakan pada sel-sel granulosa terdapat reseptor-reseptorhormon LH-FSH. Sebagaimana yang dinyatakan oleh Suheimi (2007), bahwa reseptor FSH hanya ditemukan di sel-sel granulosa yang penting untuk mengendalikan perkembangan folikel. Selain FSH sebagai regulator utama perkembangan folikel dominan, *growth factor* yang dihasilkan oleh folikel dapat bekerja melalui mekanisme autokrin dan parakrin, memodulasi kerja FSH, dan menjadi faktor penting yang berpengaruh.

2.2. Preparasi Sampel

Preparasi sampel dimulai dengan tahap determinasi tanaman untuk memastikan kebenaran simplisia yang digunakan dalam penelitian. Prose pembuatan simplisia dimulai dari panen, sortasi, penimbangan, pencucian dan perajangan, Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air dalam sampel, menghentikan reaksi enzimatik dan mencegah tumbuhnya jamur. Menurut Pramono (2005); Ma'mun (2006); Wijaya (2012) jika kadar air dalam bahan masih tinggi dapat mendorong enzim melakukan aktivitasnya mengubah kandungan kimia yang ada dalam bahan menjadi produk lain. Sehingga memungkinkan tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa aslinya. Hal ini tidak akan terjadi jika sampel segera dikeringkan sampai kadar airnya menjadi rendah. Beberapa enzim perusak kandungan kimia yang telah lama dikenal antara lain hidrolase, oksidase dan polimerase. Berbeda halnya menurut Harbone (1987) menyatakan bahwa pengeringan dengan cara aliran udara (kering angin) lebih baik dari pada menggunakan pengeringan dengan suhu tinggi untuk mencegah rusaknya senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Dengan kadar air tinggi akan mengganggu proses ekstraksi dikarenakan jika kadar air di dalam simplisia masih tinggi, pelarut akan sulit berdifusi masuk melewati dinding sel untuk menarik senyawa kimia yang terdapat di dalam simplisia tersebut. Sementara itu Damar (2014) menyatakan bahwa adanya perbedaan kadar air yang terlalu jauh pada sampel yakni dikarenakan perbedaan pengolahan atau preparasi.

Sampel dihaluskan menjadi serbuk dan halus bertujuan mendapatkan luas permukaan yang besar sehingga memudahkan kontak antara pelarut dan sampel pada saat melakukan ekstraksi. Sebagaimana telah dijelaskan bahwa semakin

kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya maka interaksi kontak pelarut dalam ekstraksi akan semakin besar, sehingga proses ekstraksi akan semakin efektif (Voight, 1995). Serbuk yang halus kemudian diayak dengan ayakan 80 mesh. Hal ini bertujuan untuk menyeragamkan ukuran sampel karena ukuran sampel yang seragam dan kecil menyebabkan pemecahan dinding sel oleh pelarut akan semakin cepat dan serentak, sehingga dapat memaksimalkan proses ekstraksi.

2.3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari campurannya, ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Suyitno *et al.* 1989).

Hasil ekstrak yang diperoleh akan tergantung pada beberapa faktor antara lain kondisi alamiah senyawa tersebut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, dan perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel (Darusman *et al.* 1995). Sedangkan, metode ekstraksi yang digunakan tergantung dari beberapa faktor, antara lain tujuan ekstraksi, skala ekstraksi, sifat-sifat komponen yang akan diekstrak dan sifat-sifat pelarut yang digunakan. Metode umum ekstraksi yang

dapat dilakukan terdiri dari ekstraksi dengan pelarut, destilasi, supercritical fluid extraction (SFE), pengepresan mekanik dan sublimasi (Houghton, 1998).

Penelitian ini menggunakan metode maserasi karena metode tersebut merupakan salah satu metode umum dalam proses ekstraksi bahan alam, selain itu metode tersebut merupakan metode yang sederhana dan mudah (Setiawan, 2014). Prinsip ekstraksi maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel, sehingga isi sel akan larut dalam pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut akan berlangsung secara terus-menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Medicafarma dalam Zamrodi, 2011). Proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memberikan kelarutan senyawa alam terhadap pelarut (Darwis, 2000). Namun, kerugian metode ini yaitu pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Endah, 2008).

2.4. Aktivitas Antifungi

Penggunaan senyawa antifungi khususnya yang alami, secara umum meningkat dari tahun ke tahun. Senyawa antifungi merupakan senyawa yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Senyawa antifungi yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tanaman diketahui dapat menghambat beberapa mikroorganisme patogen maupun perusak pangan (Branen, 1993). Senyawa antifungi yang berasal dari tanaman, sebagian besar diketahui merupakan metabolit sekunder tanaman, terutama golongan fenolik dan terpena.

Sebagian besar metabolit sekunder dibiosintesis dari banyak metabolit primer seperti dari asam-asam amino, asetil ko-A, asam mevalonat, dan metabolit antara (Helbert, 1995). Ditambahkan oleh Nychas dan Tassou (2000), beberapa senyawa yang bersifat antifungi alami berasal dari tanaman diantaranya adalah fitoaleksin, asam organik, minyak essential (atsiri), fenolik dan beberapa kelompok pigmen tanaman atau senyawa sejenis.

Mikroorganisme dapat menyebabkan infeksi, menimbulkan penyakit, dan merusak bahan pangan. Mikroorganisme dapat dihilangkan, dihambat dan dibunuh dengan cara fisik maupun kimia. Senyawa antifungi adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan dapat digunakan untuk penelitian pengobatan infeksi pada manusia, hewan dan tumbuhan. Antimikroba meliputi antifungi, antibakteri, antiprotozoa dan antivirus (Inayati, 2007).

2.4.1. Uji Aktivitas Antifungi Secara *In Vitro*

Kusmiyati dan Agustini (2006) menyatakan, pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode pengenceran yaitu mengencerkan zat antifungi dan dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi steril. Ke dalam masing-masing tabung itu ditambahkan sejumlah mikroba uji yang telah diketahui jumlahnya. Pada interval waktu tertentu, dilakukan pemindahan dari tabung reaksi ke dalam tabung-tabung berisi media steril yang lalu diinkubasikan dan diamati penghambatan pertumbuhan.

Seleksi aktivitas antibakteri dengan difusi sumur dan difusi cakram digunakan sebagai uji pendahuluan. Metode ini dipengaruhi oleh ketebalan lapisan agar dan volume ekstrak yang terserap dalam cakram (Dorman dan Deans, 2000). Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram (Kusmiyati dan Agustini, 2006).

Penghambatan mikroorganisme oleh suatu senyawa antibakteri dinyatakan dengan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) yaitu konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme sebanyak 90 % dari inokulum asal selama inkubasi 24 jam (Cossentio *et al.*,1999). Nilai MIC dan MFC (*Minimum Fungicidal Concentration*) senyawa antibakteri dari ekstrak rempah-rempah maupun tanaman berbeda-beda bergantung pada jenis mikroorganisme dan senyawa antifungi.

2.5. *Candida albicans*

Candida albicans merupakan cendawan dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda, yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora (sel khamir) dan sebagai hifa yang akan membentuk pseudohifa (Simatupang, 2009).

Spesies anaerobic fakultatif yang dijumpai di usus termasuk jamur *Candida albicans*. pH dalam vagina terpelihara yaitu berkisar 4,4-4,6. Mikroorganisme yang mampu berkembang biak pada pH rendah ini dijumpai

dalam vagina yaitu jenis jamur *Candida albicans* dan sejumlah besar bakteri anaerobic (Pelczar, 2009).

2.5.1. Klasifikasi *Candida albicans*

Kerajaan: Fungi

Filum : Ascomycota

Subfilum: Saccharomycotina

Kelas : Saccharomycetes

Ordo : Saccharomycetales

Family : Saccharomycetaceae

Genus : *Candida*

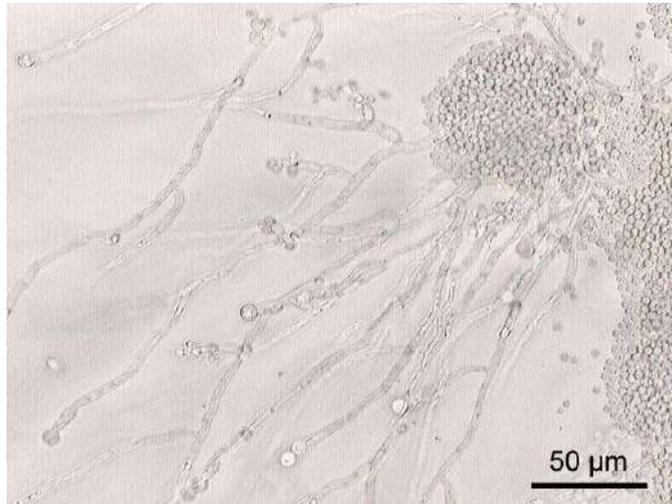
Spesies: *Candida albicans*

Sinonim : *Candida stellatoidea* dan *Oidium albicans* (Hendarwati, 2008)

2.5.1.1. Morfologi *Candida albicans*

Candida albicans merupakan jamur dimorfik yaitu jamur yang mempunyai dua morfologi, kedua morfologi itu adalah bentuk ragi dan bentuk hifa atau miselial (Chaffin *et al.*, 1998). Pada keadaan normal yaitu pada suhu 37°C dengan pH yang relatif rendah, *Candida albicans* berada dalam bentuk ragi, yang merupakan sel tunggal. Dalam bentuk ini, *Candida albicans* bereproduksi dengan membentuk blastospora, yaitu spora yang dibentuk dengan pembentukan tunas. Dalam proses ini, sel ragi *Candida albicans* membentuk tunas yang kemudian tumbuh semakin besar dan akhirnya melepaskan diri melalui proses budding. Pada pengamatan secara mikroskopik, sel ragi *Candida albicans* dapat

terlihat dalam bentuk bertunas tunggal ataupun multipel ditunjukkan gambar 2.4. (Winata, 2006).



Gambar 2.4. Morfologi *Candida albicans*

Hasil terbaik untuk pemeriksaan mikroskopis terhadap *Candida albicans* diperoleh bila isolasi (inkubasi) berasal dari *cornmeal tween 80* agar dan pada suhu 25° C selama 72 jam (DayJo, 2003). *Candida albicans* memperlihatkan sekelompok blastokonidia yang berbentuk bulat di sepanjang hifa dan terutama pada bagian septum. Selain itu juga dapat dilihat hifa serta hifa semu. *Candida albicans*, bersama dengan *Candida dubliniensis*, adalah dua jenis *Candida* spp. yang memperlihatkan spora tipe aseksual yaitu klamidokonidium. Klamidokonidia berbentuk bulat besar dengan dinding tebal dan berada di terminal (DayJo, 2003).

2.5.1.2. Struktur Fisik *Candida albicans*

Dinding sel *C. albicans* memiliki dua fungsi, yaitu sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik. Selain itu, dinding sel juga berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Dari

semua fungsi tersebut, fungsi utama dinding sel adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. Melalui pemeriksaan di bawah mikroskop elektron, dinding sel *C. albicans* memiliki struktur yang berlapis-lapis, maksimal 6 lapis dengan ketebalan yang berbeda – beda, tebalnya 100 sampai 400 nm dan dipengaruhi oleh usia serta lingkungan pertumbuhannya (Odds, 1988).

Komponen utama dinding sel *Candida albicans* adalah glukukan, kitin dan manoprotein (Chaffin *et al.*, 1998). Komponen terbanyak adalah manoprotein (manan yang berikatan dengan protein) dengan jumlah sekitar 15-30% dari berat kering dinding sel, sedangkan komponen lainnya memiliki komposisi seperti berikut : 1,3-D-glukan dan 1,6-D-glukan sekitar 47-60%, kitin sekitar 0,6-9%, protein 6-25% dan lipid 1-7% (Odds, 1988). Disamping itu juga terdapat komponen minor yaitu lemak dan garam anorganik. Komposisi dinding sel pada sel ragi dan hifa relatif sama (Marcilla, 1998).

Glucans memiliki beberapa peran berbeda dalam fisiologi *Candida albicans*, namun yang terpenting adalah fungsi strukturalnya. Kitin, walaupun merupakan komponen yang paling sedikit, namun memiliki peran penting dalam menjaga integritas struktur dinding sel (Marcilla, 1998). Manoprotein dan protein lain tersusun dominan di lapisan luar dinding sel dan sebagian terdistribusi di seluruh lapisan dinding sel, termasuk di bagian dalam.

Manoprotein menempel secara kovalen pada rangka β -glucans dan protein. Manoprotein merupakan pencetus respon imun pada inang selama kandidiasis dan diduga terlibat dalam menentukan morfologi sel. Manoprotein

mempunyai aktivitas imunomodulasi terhadap respon imun tubuh inang sehingga dapat mengatur seluruh sistem imun, termasuk natural killer cell, sel fagositik (makrofag), respon imun seluler dan respon imun humoral (Marcilla, 1998). Lapisan luar dinding sel dapat membentuk fimbria, yang terutama tersusun oleh glikoprotein. Fimbria terdapat pada bentuk ragi dan miselium. Fimbria dapat menjadi perantara dalam adhesi *Candida albicans* pada reseptor glikosfingolipid di permukaan sel epitel manusia (Chaffin *et al.*, 1998).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di Laboratorium. Ekstraksi komponen aktif Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) dengan metode maserasi menggunakan 3 macam pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu etanol (polar), n-heksana (nonpolar), dan kloroform (semipolar). Hasil ekstrak tersebut kemudian digunakan untuk uji aktivitas antioksidan dan antifungi.

Aktivitas antioksidan menggunakan variasi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm (Saman, 2013) kemudian dihitung persen aktivitas antioksidannya dan nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*). Masing-masing ekstrak selanjutnya diuji aktivitas antifungi secara *in vitro* terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* menggunakan metode difusi (*blank disk paper*) dan mikrodilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Pada masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2015 - Oktober 2015 di Laboratorium Genetika dan Riset Jurusan Biologi, Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang

3.3. Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi:

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) dengan beberapa pelarut organik (etanol p.a, kloroform p.a, dan n-heksana p.a) dan dengan berbagai variasi konsentrasi.

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dan aktivitas antifungi ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) yaitu persen antioksidan, nilai IC_{50} (*Inhibition concentration 50%*), tingkat kekeruhan yang dihasilkan pada media SDB (*Saboraud Dextrose Broth*) untuk konsentrasi hambat minimal (KHM), jumlah koloni bakteri yang dihasilkan pada media agar untuk konsentrasi bunuh minimum (KBM) dan Zona hambat pada Difusi Cakram Kertas (Paper Disc).

3.3.3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah variabel yang diusahakan sama setiap perlakuan meliputi, suhu inkubasi, waktu inkubasi dan media pertumbuhan.

3.4. Alat dan Bahan

1.5.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat untuk ekstraksi maserasi dan uji antioksidan antara lain timbangan digital, tabung erlenmeyer tutup 250 mL, spatula besar, spatula kecil, pengaduk kaca, rotary shaker, erlenmeyer vakum, corong buchner, nampan, kertas saring whatman no 1, rotary vacuum evaporator, gelas vial, kertas label, refrigator, mikro pipet 0,5-10; 2-20; 20-200, 100-1000 μ L, oven, beaker glass 50; 250 mL, gelas ukur 100 mL, tabung reaksi, gelas arloji, botol gelap, rak tabung reaksi, labu ukur 5 mL, labu ukur 10 mL, labu ukur 20 mL, pipet ukur 5 mL, pipet ukur 2 mL, pipet ukur 0,1 mL, aluminium foil, spektroskop 20+, spektrofotometer UV-Vis *Varian Carry*, inkubator, hand glove, masker, kertas tisu, alat tulis, camera digital.

Alat-alat untuk uji antifungi antara lain autoklaf, labu erlenmeyer 250 mL, cawan petri, tabung reaksi, paper disk steril, gelas ukur, pinset, Laminar Air Flow (LAF), inkubator, hotplate stirrer, bunsen, jarum ose, kertas label, botol semprol, kapas, korek api, masker, mikroskop, colony counter, alat tulis, spidol, camera digital.

1.5.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 kg simplisia kering rimpang tanaman temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), pelarut etanol p.a, kloroform p.a, *n*-heksana p.a 2,5 liter merk Merck[®], aquades steril, DPPH (1-1-difenil-2-pikrihidrazil), asam askorbat (vitamin C),

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji antifungi adalah biakan murni jamur *Candida albicans*, media *Sabouraud dextrose broth* (SDB), *Sabouraud dextrose agar* (SDA), tablet nystatin 200 mg, standar Mc Farland 0,5, alkohol 70%, spirtus, kapas, kain kasa, PEG 400, NaCl, emulsifier,

3.5. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel;
2. Ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi tunggal;
3. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH;
4. Uji antifungi terhadap *Candida albicans*

3.6. Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah simplisia rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) yang diperoleh dan dideterminasi di UPT Materia Medica Batu. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

Proses pembuatan simplisia mulai dari panen, sortasi, penimbangan, pencucian, penirisan, perajangan, penjemuran, pengeringan dengan oven, penggilingan sampai pada tahap pengemasan dilakukan oleh UPT. Materia Medica Batu.

Serbuk sampel diekstraksi dengan beberapa pelarut organik yang berbeda sifat kepolarannya, antara lain etanol p.a (polar), kloroform p.a (semi polar), dan n-heksana (non polar).

3.6.2 Ekstraksi Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Dengan Metode Maserasi Tunggal

Sebanyak 100 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer tutup 500 mL, lalu ditambahkan dengan pelarut etanol p.a (polar), kloroform p.a (semipolar) dan n-heksana p.a (non polar) masing-masing sebanyak 400 mL (1 : 4). Hal ini mengacu pada penelitian Yenie (2013) yang mana perendaman dilakukan dengan cara mencampurkan bahan dengan pelarut dengan rasio 1 : 4 yaitu 100 g bahan baku dan 400 ml pelarut. Kemudian diaduk hingga merata dan dimaserasi (didiamkan) selama sehari (24 jam) pada suhu kamar. Setelah itu digoyang selama 1 jam untuk mencapai kondisi homogen dalam rotary shaker dengan kecepatan 120 rpm (rotation per minutes) diulang sebanyak 3 kali agar kontak antara sampel dan pelarut semakin sering terjadi.

Pada proses maserasi dilakukan variasi pelarut karena senyawa aktif dalam rimpang jeringau belum diketahui sifat kepolarannya. Pelarut dipilih berdasarkan tingkat kepolaran dengan tujuan memperoleh pelarut terbaik yaitu pelarut yang dapat mengekstrak dalam jumlah besar dan dapat mengekstrak golongan senyawa antioksidan maupun antifungi yang mempunyai aktivitas tertinggi. Selain itu dengan adanya variasi pelarut diharapkan mendapatkan golongan senyawa aktif yang bervariasi pula pada tiap ekstraknya.

Maserat (hasil maserasi) yang diperoleh kemudian disaring dengan corong buchner vacuum untuk mempercepat penyaringan. Selanjutnya filtrat hasil penyaringan atau pemisahan dipekatkan dengan rotary vacuum evaporator. Proses evaporasi dihentikan sampai pelarut habis dengan ditandai tidak adanya penetesan

pelarut pada labu pelarut. Masing-masing ekstrak dihitung nilai rendemennya dengan persamaan (Husnah, 2009):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang digunakan}}$$

Ekstraksi komponen senyawa aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi/perendaman. Ekstraksi serbuk sampel rimpang temu mangga menggunakan pelarut etanol.

Serbuk sampel dimaserasi dengan pelarut yang telah ditentukan selama 24 jam, kemudian *dishaker* selama 3 jam dengan 150 rpm, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan sampai filtratnya berwarna pucat. Selanjutnya disaring dan ketiga filtratnya digabung menjadi satu. Lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vaccum*. Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung rendemennya dengan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots$$

Uji Fitokimia dengan Uji Pereaksi

Uji fitokimia kandungan golongan senyawa aktif dengan uji pereaksi dari ekstrak etanol dilarutkan dengan sedikit pelarutnya. Kemudian dilakukan terhadap uji alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin.

Uji Alkaloid (Halimah dan Hayati, 2010)

Ekstrak rimpang temu mangga, rimpang jeringau, dan umbi bawang putih serta ramuannya diambil ekstrak pekat dan dimasukkan dalam tabung reaksi,

ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff, tabung II ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan/putih, menunjukkan adanya alkaloid. Hasil uji pereaksi ini selanjutnya digunakan pada tahap pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan alkaloid.

Uji Flavonoid (Indrayani, 2006)

Ekstrak rimpang temu mangga, rimpang jeringau dan umbi bawang putih serta ramuannya diambil ekstrak pekat dan dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1 – 2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 0,5 mL HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid. Hasil uji pereaksi ini selanjutnya digunakan pada tahap pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan flavonoid.

Uji Triterpenoid dan Steroid (Indrayani, 2006)

Ekstrak rimpang temu mangga, rimpang jeringau dan umbi bawang putih serta ramuannya diambil ekstrak pekat dan dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1 - 2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

Uji Saponin (Halimah dan Hayati, 2010)

Ekstrak rimpang temu mangga diambil ekstrak pekat dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N dan dibiarkan selama 10 menit, bila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin.

Uji Tanin (Indrayani, 2006)

Ekstrak rimpang temu mangga diambil ekstrak pekat dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1 %. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol dan warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin galat.

3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

3.6.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,5 ml, ditambahkan pelarut (etanol, methanol, kloroform dan n-heksan) 4,5 ml, didiamkan selama 30 menit dan dimasukkan ke dalam kuvet dan dicari λ_{maks} larutan dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.6.2.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Dibuat larutan ekstrak 400 ppm sebanyak 5 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,5 mL (3:1). Waktu kestabilan dicari setelah diinkubasi pada suhu 37 °C dan rentang waktu 5–120 menit dengan interval 5 menit. Sampel

diukur menggunakan spektrometri UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya (Bariyyah, 2013). Hal ini ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil.

3.6.2.3 Pengukuran Potensi Antioksidan Pada Sampel

Cara pembuatan kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM diambil sebanyak 1,5 mL dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut dari masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL. Tabung reaksi ditutup tisu, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya. Setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang 514,9 nm dengan waktu kestabilan 65-75 menit.

Sampel ekstrak dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi ppm. Kemudian disiapkan tiga tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi, kemudian tiap-tiap tabung konsentrasi diisi dengan 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH : ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37°C pada waktu kestabilan menit, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang nm. Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan persamaan 3.1

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidannya, selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai IC₅₀ nya dengan memperoleh persamaan regresi menggunakan program “*GraphPad prism5 software Regression for analyzing dose-response data*”. Pembanding asam askorbat (Vitamin C): diperlakukan seperti sampel akan tetapi sampel diganti dengan larutan asam askorbat (Vitamin C).

3.6.4 Uji Aktivitas Antifungi

Uji aktivitas antifungi dilakukan terhadap ekstrak rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) meliputi:

3.6.3.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara membungkus semua peralatan dengan menggunakan kertas putih bekas pakai kemudian dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 Psi (Per Square Inchi) selama 15 menit. Alat yang tidak tahan panas disterilisasi dengan alkohol 70%.

3.6.3.2 Pembuatan Media

a. Media *Sabouraud dextrose agar* (SDA)

Sabouraud dextrose agar (SDA) ditimbang sebanyak 39 g kemudian dilarutkan kedalam 1 L akuades, kemudian dipanaskan diatas hotplate-stirer sampai mendidih sehingga terbentuk larutan agar. Disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 1-2 atm. Ditunggu dingin

sekitar suhu 40-45 °C kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 5 ml untuk agar lempeng.

b. *Media Sabouraud dextrose broth (SDB)*

Sabouraud dextrose broth (SDB) ditimbang sebanyak 39 g kemudian dilarutkan kedalam 1 L akuades, kemudian dipanaskan diatas hotplate-stirer sampai mendidih sehingga terbentuk larutan agar. Larutan agar tersebut dimasukkan ke dalam botol kaca tertutup sebanyak 15 ml. Botol kaca tertutup yang berisi agar disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

3.6.3.3 Peremajaan Biakan Bakteri

Dicairkan media SDA yang disimpan di dalam lemari pendingin. diambil 1 ose lalu jarum ose lalu jarum ose yang mengandung *Candida albicans*, digoreskan secara aseptis pada media nutrient agar pada cawan yaitu dengan mendekatkan cawan pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Kemudian cawan petri ditutup kembali dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator.

3.6.3.4 Pembuatan Suspensi Bakteri

Diambil 1 koloni dan ditanam *Candida albicans* pada media SDB, Selanjutnya divorteks supaya homogen, kemudian diinkubasi dalam inkubator. Hasil suspensi dibandingkan dengan standar Mc Farland 0,5 hingga diperoleh kekeruhan kurang lebih sama. Kemudian diukur kekeruhannya disamakan pada optical density = 0,120 – 0,15 dengan panjang gelombang 530 nm menggunakan

spektrofotometer (Lee, 2010) dan jumlah sel yang digunakan disetarakan dengan 10^6 cfu/mL dengan berpedoman pada kurva standar.

3.6.3.5 Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Rimpang Temu Mangga

Uji kepekaan mikroba uji *Candida albicans* terhadap antifungi dilakukan dengan menggunakan metode difusi menggunakan *blank disk paper* dan mikro dilusi (*micro dilution test*) untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan melakukan penanaman bakteri pada media dengan pemberian konsentrasi ekstrak rimpang Temu Mangga pada (Lampiran 2).

3.6.3.5.1. Uji Aktivitas Antifungi dengan Metode Difusi

Uji aktivitas antifungi dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan *blank disk paper* (diameter 6 mm). Dimasukkan suspensi jamur sebanyak 0,1 mL ke dalam cawan petri steril, kemudian dimasukkan media SDA yang masih cair sebanyak ± 15 ml, dan media dibiarkan memadat. Di atas medium SDA diletakkan kertas cakram steril yang telah direndam dengan ekstrak etanol, kloroform dan n-heksana dengan konsentrasi 100 % selama 30 menit. Dilakukan kontrol positif dengan merendam kertas cakram pada nistatin dan kontrol negatif menggunakan pelarut PEG 400. Kertas cakram tersebut diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Suganda, 2003). Setelah 2 x 24 jam diamati ada tidaknya zona bening di sekitar kertas cakram. Zona bening yang terbentuk diukur

diameternya menggunakan jangka sorong. Adanya daerah bening di sekeliling cakram kertas menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. *Luas zona hambat = Luas zona bening-Luas kertas cakram* (Dewi, 2010).

3.6.3.5.2. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan metode dilusi tabung/pengenceran, media yang digunakan adalah *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) pada tabung reaksi dan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) pada cawan petri. Pembuatan larutan uji dalam penelitian ini seperti penelitian yang dilakukan oleh Anggara (2014) dengan konsentrasi yang digunakan untuk uji kepekaan jamur *Candida albicans* yaitu 50 %; 25 %; 12,5 %; dan 6,25 %. Namun konsentrasi tersebut dilanjutkan dengan cara diturunkan lagi setengah kali lipatnya menjadi 3,13 %; 1,56 %; 0,78 %; dan 0,39 %.

Penentuan nilai KHM dan KBM dilakukan dengan cara *streak plate* dari hasil uji daya antifungi secara dilusi padat. Hasil uji yang digunakan adalah semua media yang memberikan kejernihan media secara visual. KHM adalah konsentrasi terkecil yang dapat menghambat mikroba, ditandai dengan *C. albicans* masih dapat tumbuh pada hasil *streak plate*. Sedangkan KBM adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh mikroba, ditandai dengan *C. albicans* sudah tidak dapat tumbuh pada hasil *streak plate* yang menandakan mikroba uji mati karena larutan uji dengan konsentrasi tersebut (McKane & Kandel, 1996; Koneman, Allen & Schreckenbergr, 1997).

a. Penentuan nilai KHM

Langkah awal penentuan nilai KHM adalah memberi nomor 1 s/d 10 pada mikroplate steril yang disediakan (Keterangan: sumuran no. 1 = kontrol kuman, sumuran no. 2 = kontrol bahan, dan sumuran no. 3-10 = larutan antifungi (ekstrak uji). Kemudian dibuat larutan antifungi dari ekstrak dengan konsentrasi 100 % (ditambah emulsifier). Lalu dimasukkan ekstrak sebanyak 200 μ L di sumuran no. 2 (Kontrol Bahan). Dimasukkan aquades sebanyak 100 μ L pada sumuran no.3 sampai dengan sumuran no. 10. Dicampur hingga rata sumuran no. 3, kemudian diambil dan dipindahkan sebanyak 100 μ L ke dalam sumuran 4. Selanjutnya dikerjakan hal yang sama terhadap sumuran 5 s/d 10. Pada tabung no. 10, setelah tercampur merata larutan dibuang sebanyak 100 μ L. Kemudian ditambahkan perbenihan cair kuman (jamur *Candida* 10^6 pada media SDB) sebanyak 100 μ L ke dalam sumuran 1, 3-10. Dengan demikian volume masing-masing tabung menjadi 200 μ L, sehingga konsentrasi akhir antifungi berubah. Lalu diinkubasi semua tabung pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Kemudian diperhatikan/dilihat dan dicatat pada tabung ke berapa tampak terjadi kekeruhan. Menurut (Rintiswati, 2004 dalam Widyaningrum, 2015) KHM ditandai dengan jernihnya (tidak adanya kekeruhan) pada sumuran (sumuran yang jernih = positif KHM). Namun dikarenakan ekstrak rimpang temu mangga bersifat keruh maka semua larutan uji di dalam tabung percobaan ditanam pada cawan petri yang sudah berisi media SDA.

b. Penentuan Nilai KBM

Pada tahap penentuan KBM dalam penelitian ini yaitu dari masing-masing tabung selanjutnya diambil satu ose dan diinokulasikan (streaking) dengan metode

strike hitungan pada medium padat SDA. Kemudian medium SDA diinkubasi lagi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Keesokan harinya dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada setiap cawan dengan menggunakan Colony Counter. Disebut KBM jika pertumbuhan koloni kuman 0,1 % dari jumlah koloni kontrol kuman (kuman mati sejumlah 99,9 %). Hal ini sesuai menurut (Dzen et al., 2003; Winarsih, 2011) bahwa nilai KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada medium SDA) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1 % dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum/OI*) pada medium SDA yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose.

3.7. Analisis Data

3.7.1. Uji Aktivitas Antioksidan

Analisis data pada uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung persen (%) aktivitiitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi dari masing-masing ekstrak, kemudian dilakukan perhitungan nilai IC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak (x) dengan persen (%) aktivitas antioksidan (y). Dibandingkan nilai IC_{50} pada masing-masing sampel. Sampel yang mempunyai nilai IC_{50} terendah menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang tinggi. Selanjutnya, membandingkan nilai IC_{50} pada masing-masing sampel dengan pembanding untuk mengetahui aktivitas antioksidan alami dengan antioksidan sintetik.

3.7.2. Uji Aktivitas Antifungi

Data yang diperoleh yaitu data zona hambat masing-masing sampel dan pembandingan, Analisis data uji antifungi dengan dilusi padat didapat dengan melihat kekeruhan media secara visual dan dianalisis secara dengan deskriptif. Nilai KHM dan KBM didapat dari hasil penegasan dengan metode streak plate (Dwijayanti, 2011).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Fitokimia dengan Uji Perekasi

Uji fitokimia terhadap ekstrak etanol merupakan langkah awal yang dapat membantu untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Secara umum dapat dikatakan bahwa metodenya sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna (*spot test*) dengan suatu pereaksi warna. Penelitian ini pengujiannya dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dari ekstrak etanol dan dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan pereaksi sesuai dengan senyawa yang akan

diidentifikasi. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin dan tanin.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol semua tanaman positif terhadap triterpenoid. Ekstrak jeringau, bawang putih dan ramuan positif terhadap alkaloid, sementara temu mangga dan ramuan positif terhadap flavonoid. Hasil pengamatan uji fitokimia disajikan pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil pengamatan uji fitokimia

Golongan senyawa	Pereaksi Uji	Ekstrak Temu Mangga
Alkaloid	Dragendorff	-
	Mayer	-
Flavonoid	Wilstater	+
Triterpenoid	Lieberman-Burchard	+
Steroid	Lieberman-Burchard	-
Saponin	Forth	-
Tanin	FeCl ₃	-

Ket: + : positif terhadap senyawa/ terbentuk warna
 - : negatif terhadap senyawa/ tidak terbentuk warna

1.2 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl) secara *In Vitro*

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode ini dipilih karena merupakan metode yang sederhana cepat dan mudah untuk skrining aktivitas penangkapan radikal bebas beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis (Prakash, 2001).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol, kloroform dan n-heksana serta asam askorbat (vitamin C) dilakukan pada panjang gelombang 514.9 nm dan waktu kestabilan 65-75 menit (Lampiran 2 dan 4). Waktu kestabilan adalah waktu dimana sampel dapat meredam DPPH dengan stabil (absorbansi mendekati konstan). Pengujian antioksidan menggunakan inkubasi (37°C). Lailiyah (2014), menyatakan bahwa sampel yang diinkubasi akan lebih stabil dan memiliki penurunan absorbansi yang lebih signifikan dibanding sampel yang tidak diinkubasi. Pada suhu ini diduga sampel antioksidan bereaksi dengan baik dengan DPPH. Diduga suhu yang telah terkondisikan ini dapat mempercepat terjadinya reaksi antara sampel antioksidan dengan DPPH. Pengujian terhadap ekstrak etanol, kloroform dan n-heksana rimpang temu mangga serta pembanding vitamin C dilakukan pada beberapa konsentrasi, yaitu 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm. Penentuan konsentrasi tersebut dilakukan setelah melalui tahap uji pendahuluan.

Hasil analisis kualitatif terhadap sampel uji yang memiliki aktivitas antioksidan dapat dilihat penurunan intensitas warna DPPH menjadi pudar. Ekstrak dari berbagai konsentrasi yang telah diinkubasi mengalami perubahan warna dari warna ungu menjadi kuning. Pada sampel yang mengandung senyawa antioksidan, semakin tinggi konsentrasi berarti semakin banyak pula senyawa yang akan menyumbangkan elektron atau atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH, yang turut menyebabkan pemudaran warna pada DPPH. Sunarni (2005) menyatakan penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan

yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil.

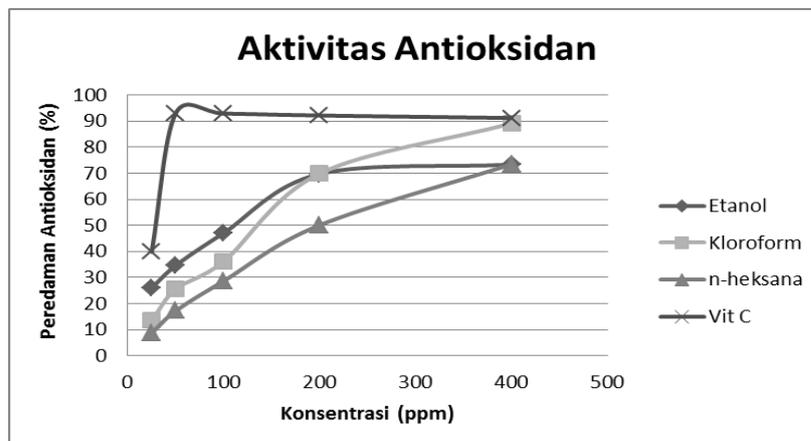
Molyneux (2004) menyatakan suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya ditandai dengan semakin hilangnya warna ungu (menjadi kuning pucat). Data absorbansi menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin rendah juga absorban yang dihasilkan. Menurut Amrun dan Umiyah (2005), adanya penurunan absorban menunjukkan peningkatan kemampuan peredaman radikal bebas DPPH. Hal tersebut berarti konsentrasi yang tinggi juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas antioksidan masing-masing sampel dinyatakan dalam persentase aktivitas antioksidan.

Hasil nilai absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan sampel dan pembanding vitamin C. Aktivitas antioksidan sampel dan pembanding vitamin C ditunjukkan dalam tabel 4.2 dan gambar 4.2. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut, maka semakin tinggi persentase inhibisinya, hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak, maka semakin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Tabel 4.2 Aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temu mangga dan pembanding

(x) Konsentrasi (ppm)	(y) Aktivitas Antioksidan (%)			
	Ekstrak Etanol	Ekstrak Kloroform	Ekstrak n-heksana	Vitamin C
25	26.022	13.404	8.644	39.853
50	34.578	25.550	17.162	93.025
100	47.033	36.138	28.632	92.909
200	69.737	69.883	50.061	92.181
400	73.315	89.091	73.427	91.203

Aktivitas peredaman radikal bebas biasanya dinyatakan sebagai persen inhibisi dari DPPH, tetapi dapat juga dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (IC_{50}). Nilai IC_{50} dianggap sebagai ukuran yang baik dari efisiensi antioksidan senyawa-senyawa murni ataupun ekstrak. Nilai IC_{50} dapat didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas, yaitu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar (Molyneux, 2004).



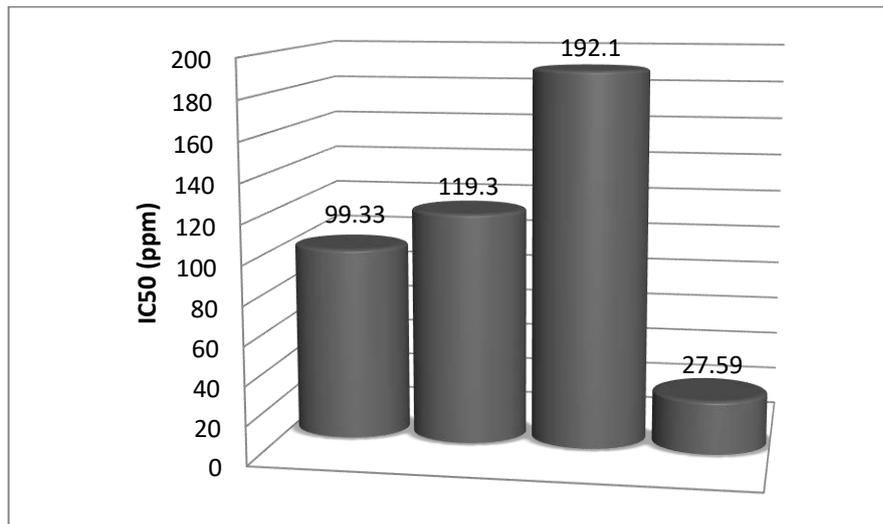
Gambar 4.1 Grafik Aktivitas Antioksidan Ekstrak Temu Mangga dan Vitamin C

Dalam penelitian ini, nilai IC_{50} didapatkan dari hasil persentasi aktivitas antioksidan yang dianalisis menggunakan persamaan regresi non-linear, disesuaikan dengan data yang diperoleh, dan dihitung menggunakan “*GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*”. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temu mangga menggunakan metode DPPH memberikan nilai IC_{50} yang berbeda dari masing-masing ekstrak. Nilai IC_{50} dan R^2 dari masing-masing ekstrak dan pembanding ditampilkan dalam tabel 4.3 dan gambar 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Nilai Regresi dan nilai IC_{50} Sampel Ekstrak Temu Mangga dan Vitamin C

No.	Sampel	Nilai R^2	IC_{50} (ppm)	Keterangan
1.	Ekstrak Etanol	0,9689	99.33	Aktif
2.	Ekstrak Kloroform	0,9742	119.3	Sedang
3.	Ekstrak <i>n</i> -heksana	0,9951	192.1	Sedang
4.	Vitamin C	0,9172	27,71	Kuat

Jun (2003) menyatakan secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan kuat ($IC_{50} < 50$ ppm), aktif (IC_{50} 51-100 ppm), sedang (IC_{50} 101-250 ppm), Lemah (IC_{50} 251-500 ppm), dan tidak aktif ($IC_{50} > 500$ ppm). Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Berdasarkan kriteria tersebut, ekstrak etanol masuk dalam kategori aktif sedangkan ekstrak kloroform dan *n*-heksana masuk dalam kategori sedang. Namun, aktivitas antioksidan ekstrak etanol, kloroform dan *n*-heksana rimpang temu mangga lebih rendah dari vitamin C yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 27.59 ppm yang tergolong kategori sangat kuat.



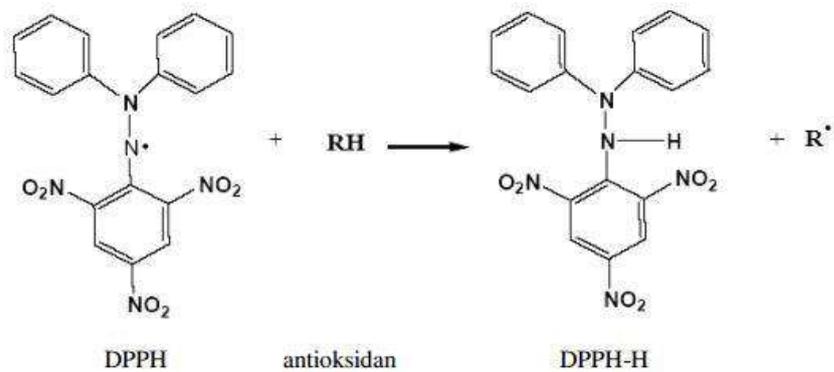
Gambar 4.2 Nilai IC₅₀ pada masing-masing ekstrak dan pembanding Vitamin C

Hubungan tersebut ditunjukkan dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) yang menunjukkan kontribusi variabel x terhadap y, artinya variabel bebas x mempengaruhi variabel terikatnya y sebesar nilai R^2 . Misalnya nilai R^2 dari ekstrak etanol temu mangga 0,9689 maka konsentrasi ekstrak mempengaruhi persen aktivitas antioksidan sebesar 0,9689. Apabila terdapat variabel x yang lain, maka hanya memberikan kontribusi maksimal 0,0311.

Penelitian yang dilakukan Jalip (2013) menyatakan ekstrak methanol temu mangga memiliki nilai IC₅₀ sebesar 90,42 ppm. Belum terdapat penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari temu mangga dalam beberapa pelarut. Sehingga, apabila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya mengenai famili tumbuhan yang sama, diketahui bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol *C. mangga* (99.33 ppm) lebih kecil dibandingkan ekstrak etanol *C. xanthorriza* (temulawak), *C. domestica* (kunyit) (58,45 ppm dan 29,64 ppm), namun lebih tinggi dibandingkan ekstrak *C. pandurata* (temu kunci) (140,21 ppm).

Ekstrak etanol p.a mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi diduga karena adanya kandungan senyawa aktif dari beberapa golongan senyawa antioksidan. Melannisa (2011) menyatakan, senyawa-senyawa fenolik yang telah terbukti memiliki aktivitas penangkap radikal dari empat ekstrak etanol yang diteliti adalah senyawa kurkuminoid (kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksi-kurkumin), xanthorizol dan panduratin A. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak suatu tanaman tergolong sebagai antioksidan sekunder. Winarsi (2007) menyatakan secara umum mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler

Pujimulyani (2003) melakukan penelitian menggunakan olahan temu mangga dan terbukti bahwa ekstrak temu mangga mampu menghambat oksidasi, karena ekstrak kunir putih mengandung kurkuminoid. Sumarny (2012) meyakini kadar kurkumin pada ekstrak etanol temu mangga sebesar 0.19%. Kurkuminoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang mempunyai sifat antioksidan dan antiradang (Hartati, 2003). Pada semua serbuk simplisia rimpang temu putih, temu mangga dan temu lawak terdapat golongan senyawa flavonoid, saponin, terpenoid dan minyak atsiri (Sumarny, 2012)



Gambar 4.3 Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Husnah, 2009)

Senyawa kurkumin telah dikenal memiliki aktivitas antioksidan (Sharma, 1976) dan sebagai penangkal radikal (Tonnesen and Greenhill, 1992). Di samping itu kurkumin juga bertindak sebagai katalisator pembentukan radikal hidroksil (Kunchandy and Rao, 1989). Kemampuan tersebut menjadikan kurkumin mampu bertindak sebagai radical scavenger terhadap metabolit antara reaktif senyawa karsinogen, sehingga mengurangi insiden terjadinya kanker. Berdasarkan hasil penelitian Rao (1997) menunjukkan bahwa kurkumin merupakan penangkal radikal terhadap radikal hidroksil dan anion superoksida. Bagaimanapun juga kurkumin merupakan antioksidan yang poten dan sebagai penangkal radikal oksigen dan nitrogen dari proses biologis yang terjadi di dalam tubuh. Kurkumin juga poten sebagai inhibitor lipid peroksidase yang terinduksi berbagai agen selular atau asing. Sifat ini mungkin mempunyai peranan penting dalam mekanisme aksi kurkumin sebagai antiinflamasi, antitumor, dan aktivitas farmakologi lainnya (Rao, 1987).

Ekstrak-ekstrak dalam pelarut kloroform dan n-heksana juga memiliki aktivitas antioksidan walaupun dalam kategori sedang. Perbedaan aktivitas antar

ekstrak tersebut kemungkinan disebabkan adanya perbedaan beberapa kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak dan jumlahnya, sehingga aktivitas antioksidannya dalam menangkap radikal bebas DPPH hasilnya juga berbeda. Pokornya (2001) menyatakan aktivitas antioksidan tidak hanya diperankan oleh golongan senyawa yang bersifat polar, namun juga dapat diperankan oleh golongan senyawa yang bersifat non-polar, diantaranya adalah golongan senyawa flavonoid non-polar, alkaloid dan triterpenoid. Glikosida flavonoid dalam bentuk aglikon yang bersifat non-polar memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan bentuk glikonnya yang bersifat polar

Rita (2009) menyatakan berdasarkan hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa dalam ekstrak n-heksana temu putih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Secara kualitatif ditunjukkan dengan intensitas perubahan warna yang kuat. Senyawa alkaloid dan triterpenoid memiliki gugus OH (polar) lebih banyak dari pada CH (non polar). Gugus OH inilah yang memiliki peran menyumbangkan atom hidrogennya sehingga radikal DPPH menjadi stabil dan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan menjadi radikal. Menurut Husnah (2009) DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan radikal antioksidan, prosesnya sebagai berikut:

Hasil pengujian fitokimia yang dilakukan oleh Azzahra (2015) terhadap ekstrak kloroform temu mangga menyatakan bahwa ekstrak kloroform temu mangga positif mengandung senyawa triterpenoid. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mikamo *et al.*, (2000), gugus samping yang berikatan pada suatu

senyawa tertentu dapat mengakibatkan penghambatan aktivitas antioksidan, sehingga diduga pada senyawa triterpenoid terdapat gugus samping yang dapat mengakibatkan penghambatan aktivitas antioksidan. Hal tersebut mengakibatkan triterpenoid tidak dapat mendonasikan hidrogen dan elektron untuk menangkal radikal bebas. Perubahan atom -H menjadi gugus metil (-CH₃) melalui reaksi metilasi dapat menurunkan aktivitas antioksidan, yang disebabkan pengurangan atom -H yang merupakan sumber proton untuk penangkapan radikal bebas.

Ekstrak temu mangga dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami. Karena Supriyono (2007) menyatakan dalam pencariannya terhadap antioksidan baru. Berapa antioksidan sintetis telah berhasil ditemukan. Meskipun murah dan dapat diproduksi dalam jumlah yang banyak, sering kali bahan ini dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, seperti Butylated Hydroxyanisole (BHA) dan Butylated Hydroxytoluene yang dapat menimbulkan kerusakan pada hati.

Senyawa radikal bebas dengan jumlah yang berlebihan dalam tubuh dapat membahayakan kesehatan, begitupun juga dengan senyawa antioksidan. Konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dalam perlakuan dapat merubah aktivitas apabila melebihi batas sehingga dapat merubah fungsi aktivitasnya yaitu dari aktivitas sebagai antioksidan berubah menjadi aktivitas sebagai peroksidan yang dapat mendatangkan efek negatif, seperti munculnya penyakit kanker, terutama untuk penggunaan di atas ambang batas.

4.3. Aktivitas Antifungi Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Terhadap *Candida albicans* Secara *In Vitro*

Uji aktivitas senyawa antifungi adalah untuk mengetahui apakah suatu senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan mengukur respon pertumbuhan populasi jamur terhadap agen antifungi (Pratiwi, 2008). Dalam penelitian ini digunakan 2 metode yaitu difusi menggunakan *blank disk paper* untuk menentukan zona hambat pada konsentrasi ekstrak 100% dan metode mikro difusi menggunakan pengenceran media untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak temu mangga.

4.2.1 Hasil Diameter Zona Hambat Dengan Metode Difusi

Berdasarkan uji diameter zona hambat dengan metode *blank disk paper* (kertas cakram) diketahui bahwa seluruh ekstrak rimpang temu mangga pada konsentrasi 100% yang diujikan memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Penentuan zona hambat dilakukan dengan cara mengamati zona terang yang berada di zona terluar kertas cakram yang mengandung ekstrak pada media agar yang telah disetrik jamur *Candida albicans*. Semakin besar zona hambat (zona terang) maka semakin besar pula kemampuan jenis jamur keputihan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Cara mengukur zona hambat adalah dengan mengukur zona terluar dari kertas cakram sampai pada batas terluar zona hambat dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris (Murniana, 2011).

Berpengaruh atau tidaknya bahan anti mikroba dapat dilihat dari besar kecilnya area yang tidak ditumbuhi mikroba (Nurhayati *et al.*, 2007). Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak rimpang temu mangga dan pembanding

antibiotik nystatin seperti disajikan pada Tabel 4.3. Sampel Uji yang menghasilkan zona hambat dengan diameter dari ukuran terbesar sampai terkecil secara berurutan adalah nystatin > ekstrak etanol temu mangga > ekstrak n-heksana temu mangga > ekstrak kloroform temu mangga. Nilai tersebut merupakan hasil pengurangan dengan diameter *blank disk paper* (6 mm).

Berdasarkan hasil penelitian Nurliana *et al.*, (2010) aktivitas antimikroba ekstrak kasar etanol menghasilkan zona hambatan yang bervariasi terhadap jamur *Candida albicans*. Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi agar cakram kertas sangat dipengaruhi oleh jenis dan ukuran cakram kertas, pH dan sifat media, konsentrasi dan kemampuan antimikroba berdifusi ke dalam media serta bahan lain yang terbawa dengan senyawa tersebut dan jenis mikroba yang digunakan.

Tabel 4.3 Rerata Diameter Zona Hambat Fungi Ekstrak Temu Mangga, Nystatin dan PEG 400

No,	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD	Kategori Hambatan (Pan <i>et al.</i> , 2009)
1.	Ekstrak Etanol	5.172 \pm 1.377	Sedang
2.	Ekstrak Kloroform	1.780 \pm 1.090	Lemah
3.	Ekstrak n-heksana	3.434 \pm 1.409	Sedang
4.	Kontrol Positif Nystatin	18.432 \pm 0.461	Kuat
5.	Kontrol pelarut PEG 400	0,00	Tidak ada aktivitas

Terbentuknya zona hambat ekstrak temu mangga disebabkan karena adanya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antifungi, senyawa-senyawa itulah yang berperan aktif dan menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Perbedaan pelarut ekstraksi merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi, khususnya hasil fitokimia yang tertarik saat ekstraksi. Menurut Jawetz *et al.* (2001) pertumbuhan bakteri yang terhambat atau kematian bakteri akibat suatu zat antibakteri dapat disebabkan oleh penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan terhadap fungsi membran sel, penghambatan terhadap sintesis protein, atau penghambatan terhadap sintesis asam nukleat. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transpor nutrisi melalui membran sel sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya.

4.2.2 Hasil Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan Metode Mikrodilusi

Prosedur uji dilusi digunakan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), yaitu konsentrasi terendah yang dapat membunuh jamur.

Penelitian ini menggunakan sepuluh macam konsentrasi ekstrak temu mangga yaitu 50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 %, 3,13 %, 1,56 %, 0,78 %, dan 0,39 % serta konsentrasi 0 % sebagai kontrol kuman (jamur) dan konsentrasi 100% sebagai kontrol negatif (kontrol bahan). Hasil dari metode mikro dilusi adalah penentuan nilai KHM dengan pengamatan terhadap tingkat kekeruhan. Menurut

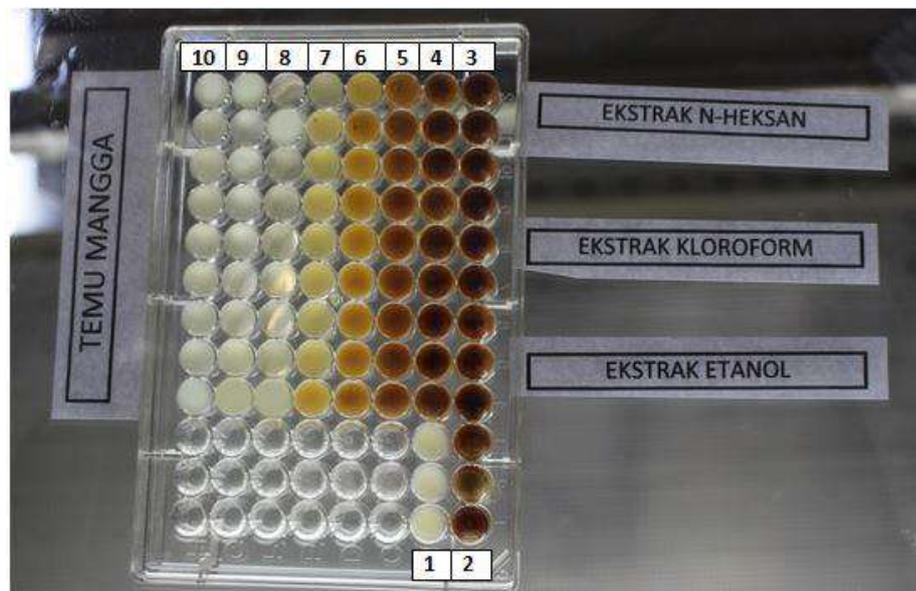
Dzen et al. (2003) penilaian KHM metode dilusi dinilai dengan mengamati tingkat kekeruhan pada setiap tabung setelah diinkubasi selama 18-24 jam yang ditunjukkan oleh warna tabung yang jernih. Tingkat kekeruhan ini merupakan tanda dari potensi antimikroba ekstrak temu mangga terhadap jamur *Candida albicans*.

Pada metode mikrodilusi, media uji tidak diletakkan dalam tabung reaksi, melainkan diletakkan dalam mikroplate yang berisi 96 *well* (sumuran) (Amirah, 2012). Pemilihan metode ini dikarenakan pada uji pendahuluan menggunakan metode dilusi tabung, kekeruhan antar konsentrasi tidak dapat diamati karena semua warna tabung keruh jika dibandingkan dengan kontrol jamur. Kekeruhan dipengaruhi oleh warna ekstrak yang pekat dan gelap sehingga dalam pengamatan langsung secara visual tingkat kekeruhan tiap konsentrasi tidak dapat diamati. Hasil dari metode turbidimetri juga tidak dapat digunakan karena dalam metode ini, nilai OD (*Optical Density*) diukur menggunakan spektrofotometer. Metode ini tidak dapat dilakukan karena sampel yang diuji dalam spektrofotometer adalah harus transparan atau tidak ada bahan pengaruh lain.

Hasil tingkat kekeruhan larutan ekstrak temu mangga berdasarkan metode mikro dilusi cair (pengenceran) seluruh ekstrak dengan konsentrasi 50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 %, 3,13 %, 1,56 %, 0,78 %, dan 0,39 %, kontrol jamur, dan kontrol bahan dapat dilihat pada Gambar 4.5. Berdasarkan hasil uji mikro dilusi plate setelah diinkubasi, dapat diamati bahwa kekeruhan jamur *Candida* hanya dapat diamati secara langsung pada *well* (sumuran) Kontrol kuman (KK) dan

konsentrasi ekstrak 0,3980 %. (*streak plate*). Oleh karena itu, semua media uji ditanam pada media SDA dengan metode penggoresan.

Diambil satu ose cairan dari *well* dan digoreskan pada permukaan media SDA secara merata kemudian diinkubasi lagi. Hasil penggoresan/streaking pada media SDA dapat dilihat pada Lampiran 6. Setelah diinkubasi selama 24 jam, dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi ekstrak dengan menggunakan *colony counter*.



Gambar 4.5 Hasil tingkat kekeruhan metode mikro dilusi cair (pengenceran)

Keterangan:

- | | |
|-------------------------------|--------------------------------|
| 1. Kontrol Kuman (KK) | 6. Ekstrak konsentrasi 6,25 % |
| 2. Kontrol Bahan (KB) | 7. Ekstrak konsentrasi 3,13 % |
| 3. Ekstrak konsentrasi 50 % | 8. Ekstrak konsentrasi 1,56 % |
| 4. Ekstrak konsentrasi 25 % | 9. Ekstrak konsentrasi 0,78 % |
| 5. Ekstrak konsentrasi 12,5 % | 10. Ekstrak konsentrasi 0,39 % |

KHM adalah konsentrasi terkecil yang dapat menghambat mikroba, dimana dengan *C. albicans* masih dapat tumbuh pada hasil streak plate. Sedangkan KBM

adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh mikroba, ditandai dengan *C. albicans* sudah tidak dapat tumbuh pada hasil streak plate yang menandakan mikroba uji mati karena larutan uji dengan konsentrasi tersebut (McKane & Kandel, 1996; Koneman, Allen & Schreckenbergr, 1997). Hal ini berlaku pada semua konsentrasi ekstrak untuk melihat kadar bunuh minimum (KBM).

KBM (Kadar Bunuh Minimal) adalah kadar terendah dari antifungi yang dapat membunuh jamur (ditandai dengan tidak tumbuhnya jamur pada media SDA) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum/OI*) pada media yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (Dzen *et al.*, 2003). Hasil penghitungan koloni yang tumbuh di media SDA dari masing-masing ekstrak dan penentuan nilai KHM serta KBM dapat dilihat pada tabel 4.6. Dari hasil pertumbuhan dan jamur *Candida albicans* tersebut dapat ditentukan kadar bunuh minimal dari ekstrak temu mangga yaitu pada media SDA yang tidak ditumbuhi koloni atau jumlah koloni < dari 0,1% dari original inokulum.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai KHM terdapat pada masing-masing ekstrak temu mangga konsentrasi 0,78%. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat jamur *Candida*, hal tersebut ditandai dengan jamur *C. albicans* masih dapat tumbuh setelah dilakukan streak plate dan dihitung dengan menggunakan *colony counter*. Apabila dilihat dari penurunan jumlah koloni maka ekstrak terbaik yang dapat membunuh jamur *Candida albicans* berturut-turut adalah ekstrak etanol (36×10^6), ekstrak kloroform (65×10^6) dan ekstrak n-heksan (65×10^6).

Tabel 4.3 Hasil Penghitungan Koloni Jamur yang Tumbuh pada SDA

Sampel Uji	Hasil Penghitungan Koloni			Keterangan		
	Ekstrak Etanol	Ekstrak Kloroform	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Etanol	Ekstrak Kloroform	Ekstrak n-heksana
Kontrol mikroba	123 x 10 ⁹	123 x 10 ⁹	123 x 10 ⁹			
0,39 %	105 x 10 ⁹	78 x 10 ⁹	92 x 10 ⁹			
0,78 %	36 x 10 ⁶	65 x 10 ⁶	66 x 10 ⁶	KHM	KHM	KHM
1,56 %	0	0	0	KBM	KBM	KBM
3,13 %	0	0	0			
6,25 %	0	0	0			
12,50 %	0	0	0			
25,00 %	0	0	0			
50,00 %	0	0	0			
Kontrol bahan	0	0	0			

Keterangan : kekeruhan media karena pertumbuhan jamur

Penentuan kadar bunuh minimum (KBM) pada ekstrak etanol, kloroform dan n-heksana temu mangga memiliki syarat $\leq 0,1\%$ OI, yaitu $\leq 123 \times 10^8$ CFU/ml atau media SDA yang tidak ditumbuhi koloni. Nilai KBM ekstrak temu mangga didapatkan pada konsentrasi 1,56 %. Pada konsentrasi tersebut ekstrak temu mangga dapat membunuh jamur *Candida* yang ditumbuhkan dalam media SDA.

Sebuah bahan obat dikategorikan sebagai antimikroba jika memiliki fungsi sebagai fungistatik dan fungisida. Bakteriostat adalah kemampuan suatu obat untuk menghambat pertumbuhan bakteri dalam kadar tertentu, sedangkan bakteriosid adalah kemampuan obat untuk membunuh bakteri dalam kadar tertentu. Menurut Mahon dan Manuselis (1995), aktivitas antibakteri tertentu dapat ditingkatkan dari fungistat menjadi fungisida apabila kadar antibakteri

ditingkatkan melebihi harga KHM. Hasil pengamatan KBM terhadap *C. albicans*, menunjukkan bahwa ekstrak dengan kadar 0,156 % bersifat bakteriosid (membunuh mikroba) karena tidak terlihat pertumbuhan mikroba dengan pemberian ekstrak pada kadar yang lebih tinggi 3,13 %.

Selain itu Allah SWT menciptakan segala sesuatu menurut ukuran agar tidak berlebihan. Dari penelitian ini dapat diambil pelajaran bahwa dalam menggunakan sesuatu tidak berlebihan melebihi ukurannya. Allah ﷻ berfirman dalam surat Al-Hijr (15) :19

وَمَا كُنَّا بِمُعْجِزِينَ عَنْ عِلْمِهِ يَوْمَ تَأْتِي السَّمَاءُ بِدُحَانٍ مُّبِينٍ
وَمَا كُنَّا بِمُعْجِزِينَ عَنْ عِلْمِهِ يَوْمَ تَأْتِي السَّمَاءُ بِدُحَانٍ مُّبِينٍ

artinya : Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran.

Ibnu Abbas mengatakan tentang *min kulli syai'in mauzun* artinya segala sesuatu dengan ukuran, mauzun artinya maklum (diketahui, tertentu). Demikian juga dikatakan oleh Sa'id bin Jubair, Ikrimah, Abu Malik, Mujahis, Abu Hakam bin 'Uyainah, Al-Hasan bin Muhammad, Abu Shalih dan Qatadah. Sebagian ulama mengatakan *mauzun* artinya ditentukan kadarnya (Abdullah, 2007).

Berkaitan dengan kadar dan ukuran, banyak faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi kerja bahan atau zat antifungi. Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja antifungi harus diperhatikan guna keefektifan penggunaan zat antifungi tersebut. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kerja zat antifungi, diantaranya adalah: umur mikroba, suhu dan bahan kandungan antifungi.

Ekstrak temu mangga memiliki senyawa metabolit sekunder aktif yang terbukti memiliki aktivitas antifungi. Kandungan senyawa yang terdapat pada temu mangga adalah kurkumin, minyak atsiri, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. Selain kandungan itu juga masih terdapat kandungan yang lainnya, akan tetapi kandungan senyawa yang diduga paling berperan sebagai antimikroba adalah senyawa tersebut. Uji fitokimia yang dilakukan oleh Azzahra (2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol temu mangga mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid. Ekstrak kloroform temu mangga mengandung senyawa triterpenoid dan ekstrak n-heksan mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid. Senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba masing-masing memiliki mekanisme yang berbeda pula. Penelitian Geoffrey dalam Kusmiyati (2011) menyatakan bahwa pada temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) terdapat senyawa kimia yang diketahui termasuk dalam kelompok zat aktif yang terbukti mempunyai aktifitas antijamur, yaitu pada spesies *Candida albicans*, *C. kruseii*, *C. Parapsilopsis*.

Sasaran utama kandungan antifungi dalam ketiga ekstrak adalah adalah dinding sel. Struktur penyusun dinding sel *C. albicans* tersusun dari polisakarida (mannan, glukukan, kitin), protein dan lipid dengan membran sel di bawahnya yang mengandung sterol (Allison, 2004 dalam Efendi, 2013). Terdenaturasinya protein dinding sel *Candida albicans* tentunya akan menyebabkan kerapuhan pada dinding sel jamur sehingga mudah ditembus zat-zat yang bersifat fungistatik (Saustromo, 1990).

Kurkumin merupakan kelompok senyawa fenolik. Cara kerja senyawa fenol adalah dengan menyebabkan koagulasi atau penggumpalan protein. Protein

yang telah menggumpal mengalami denaturasi dan dalam keadaan demikian protein tidak berfungsi lagi (Dwijoseputro, 2005). Selain itu, menurut Pelczar & Chan (2008) fenol bekerja terutama dengan cara denaturasi protein sel dan merusak membran sel. Volk & wheeler (1993) menyatakan bahwa membran sitoplasma tersusun terutama dari protein dan lemak, membran tersebut rentan terhadap fenol. Fenol dapat menurunkan tegangan permukaan. Apabila digunakan dalam konsentrasi tinggi fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma secara total dan mengendapkan protein. Dalam konsentrasi rendah fenol dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sejumlah sistem enzim bakteri.

Senyawa minyak atsiri yang terkandung dalam ekstrak temu mangga menurut Rita *et al.* (2008) adalah senyawa vallerol. Senyawa ini menyebabkan minyak atsiri aktif sebagai antijamur terhadap jamur *Candida albicans* dan antioksidan. Menurut Harmita dalam Pangaliman (2006), flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai efek farmakologi sebagai antijamur. Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional (Santoso, 2014). Flavonoid dengan kemampuannya membentuk kompleks dengan protein dan merusak membran sel dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membran sel menjadi lisis dan senyawa tersebut menembus ke dalam inti sel menyebabkan jamur tidak berkembang (Pangliman, 2006).

Senyawa triterpenoid yang bersifat kurang polar (non polar) akan lebih mudah menembus dinding sel fungi yang banyak tersusun dari lipid. Ahmad (2013) menyatakan triterpenoid merupakan senyawa golongan terpenoid, yang juga diduga sebagai antifungi. Mekanisme kerja terpenoid sebagai antifungi yaitu karena senyawa terpenoid ini larut dalam lemak sehingga dapat menembus membrane sel fungi dan mempengaruhi permeabilitasnya dan menimbulkan gangguan pada struktur dan fungsi membran sel.

Sehingga, dengan melihat fakta hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah koloni bahkan kematian *Candida albicans* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan adanya data bahwa rimpang temu mangga mengandung bahan aktif yang mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak rimpang temu mangga terbukti sensitif sebagai senyawa antifungi terhadap *Candida albicans*.

4.1. Potensi Aktivitas Antioksidan dan Antifungi Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

Allah ■ juga berfirman akan manfaat tanaman sejenis rimpang yang berkhasiat yaitu jahe, dalam Qs. Al-Insaan (76):17,

□□□□ □□□□□□□□□□ □□□□□□□□ □□□□ □□□□□□ □□□□□□□□□□□□

artinya : Di dalam syurga itu mereka diberi minum segelas (minuman) yang campurannya adalah jahe.

Ayat di atas menjelaskan bahwa di satu tempat yang sangat istimewa pun Allah ■ masih memberikan minuman yang campurannya adalah dari jenis tanaman rimpang yaitu jahe. Hal ini dapat diketahui betapa pentingnya tanaman yang ada di alam ini sangatlah penting bagi kehidupan manusia. Pada jahe banyak

digunakan oleh masyarakat sebagai obat penghangat tubuh. Salah satu tanaman yang memiliki kekerabatan dekat dengan jahe adalah temu mangga yang digunakan sebagai obat tradisional untuk mengatasi infertilitas.

Allah ■ Maha berkuasa atas segala sesuatu, sebagaimana hadist Nabi ﷺ tentang Allah yang memiliki Asma'ul husna

إِنَّ لِلَّهِ تِسْعَةً وَتِسْعِينَ اسْمًا ، مِائَةً إِلَّا وَاحِدَةً ، مَنْ أَحْصَاهَا دَخَلَ الْجَنَّةَ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah mempunyai 99 nama, yaitu seratus kurang satu; barang siapa yang menghafalnya ia masuk surga.*” (HR Bukhari dan Muslim)

Demikian juga berkaitan dengan persoalan infertilitas. Allah sudah menjanjikan bahwa setiap ada penyakit ada obatnya, bahkan di antara nama-nama Allah adalah Asy Syaafii (الشَّافِي) atau yang Maha Menyembuhkan. Sebagaimana hadits dari ‘Aisyah **d**, beliau mengatakan: “ Nabi ﷺ pernah meminta perlindungan kepada Allah ■ untuk anggota keluarganya. Beliau mengusap dengan tangan kanannya dan berdoa (Miankoki, 2012):

اللَّهُمَّ رَبَّ النَّاسِ أَذْهِبِ الْبَأْسَ وَاشْفِهِ وَأَنْتَ الشَّافِي لَا شِفَاءَ إِلَّا شِفَاؤُكَ شِفَاءً لَا يُغَادِرُ سَقَمًا

Artinya : “*Ya Allah, Rabb manusia, hilangkanlah kesusahan dan berilah dia kesembuhan, Engkau Zat Yang Maha Menyembuhkan. Tidak ada kesembuhan kecuali kesembuhan dari-Mu, kesembuhan yang tidak meninggalkan penyakit lain*” (HR Bukhari 535 dan Muslim 2191).

Allah menyembuhkan makhluk-Nya melalui sunnatullah diantaranya dengan mencari dan menemukan bahan-bahan yang berpotensi sebagai obat, khususnya obat untuk mengatasi infertilitas. Sabda Nabi (لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ) merupakan penguat motivasi bagi orang yang sakit maupun dokter atau orang yang

memberikan pengobatan, sekaligus dorongan untuk mencari pengobatan (Miankoki, 2012).

Patutlah diyakini bahwa temu mangga termasuk salah satu tanaman berkhasiat untuk mengatasi masalah infertilitas. Temu mangga sebagai salah satu penyusun jamu subur kandungan mengandung senyawa kimia yang dalam penelitian ini telah terbukti berpotensi sebagai tumbuhan yang mengandung banyak senyawa antioksidan dan antifungi. Temu mangga mengandung bahan aktif triterpenoid saponin. Dalam kajian fertilitas, komposisi triterpenoid saponin ini sangat dibutuhkan untuk melindungi sel-sel granulosa. Hal tersebut dikarenakan pada sel-sel granulosa terdapat reseptor-reseptorhormon LH-FSH. Sebagaimana yang dinyatakan oleh Suheimi (2007), bahwa reseptor FSH hanya ditemukan di sel-sel granulosa yang penting untuk mengendalikan perkembangan folikel. Selain FSH sebagai regulator utama perkembangan folikel dominan, *growth factor* yang dihasilkan oleh folikel dapat bekerja melalui mekanisme autokrin dan parakrin, memodulasi kerja FSH, dan menjadi faktor penting yang berpengaruh.

Namun, keterbatasan penelitian ini antara lain pada metode pembuatan ekstrak rimpang temu mangga ini bersifat acak dan kasar, sehingga tidak diketahui secara pasti bahan aktif mikroba apa saja yang terkandung di dalamnya. Selain itu proporsi masing-masing bahan aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi tersebut juga tidak diketahui secara pasti. Mungkin bahan aktif tersebut bekerja sendiri atau mungkin semua bahan aktif bekerja bersama-sama dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Selain itu, juga tidak ada

standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam, sehingga ada kemungkinan apabila dilakukan di laboratorium berbeda, maka hasil ekstrak yang didapatkan juga memiliki efek yang berbeda.

Kemungkinan lainnya adalah adanya variasi biologis dari masing-masing temu mangga. Temu mangga yang ditanam di daerah X mungkin efeknya tidak sama dengan yang ditanam di daerah Y. Faktor lain yang juga mempengaruhi adalah lama masa simpan ekstrak. Semakin lama disimpan, sensitivitas ekstrak biasanya akan menurun. Akan tetapi ada juga yang efeknya malah meningkat. Oleh karena itu, penelitian ini merupakan langkah awal dari proses standarisasi. Dalam penelitian-penelitian selanjutnya perlu ditingkatkan lagi standarisasinya, baik dari pemilihan bahan yang digunakan (temu mangga), serta lamanya masa simpan (jangka waktu ekstrak masih dapat digunakan sebagai antioksidan dan antifungi) sehingga apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama. Aplikasi klinis yang mungkin dari penelitian ini adalah penggunaan ekstrak rimpang temu mangga secara oral untuk pengobatan infeksi *Candida albicans*. Namun masih memerlukan penelitian lebih lanjut yaitu melalui pengujian pada hewan coba maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Sebelum obat dapat dicobakan pada manusia, dibutuhkan waktu untuk meneliti sifat farmakodinamik, farmakokinetik dan efek toksiknya pada hewan coba.

Hasil penelitian yang telah dijalankan sebelumnya menyatakan bahwa temu mangga menunjukkan berbagai aktivitas farmakologi, seperti: antioksidan, aktivitas penangkapan (*scavenging*) radikal dan aktivitas kemopreventif (pencegah kanker) (Pujimulyani *et al.* 2004; Tedjo *et al.* 2005). Yuandani (2011)

menyatakan ekstrak rimpang temu mangga memiliki aktivitas antikanker baik sebagai agen preventif (pencegahan) maupun kuratif (pengobatan). Selain itu, ekstrak etanol dan senyawa aktif yang telah berhasil diisolasi dari temu mangga, labdane diterpen glikosida, menunjukkan aktivitas sitotoksis terhadap beberapa sel line kanker, seperti MCF7, Hep G2 dan T47D (Abbas *et al.* 2005; Widowati *et al.* 2011). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Tedjo *et al.* (2005) yang melaporkan adanya efek antioksidan dan kemoprevensi (pencegahan kanker) dari temu mangga ditinjau dari aktivitas glutathione-S-transferase (GST) secara *in vitro*.

Dengan terungkapnya rahasia-rahasia alam melalui hasil penelitian, selain mempertebal keyakinan akan kebesaran Allah sebagai pencipta-Nya, juga menambah khasanah pengetahuan tentang alam untuk dimanfaatkan bagi kesejahteraan umat manusia.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol, kloroform dan n-heksana rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) memiliki aktifitas antioksidan dengan nilai konsentrasi hambatan (IC_{50}) terhadap radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl*) secara berturut-turut sebesar 99,33 ppm (kategori aktif); 119,3 ppm (kategori sedang); 192,1 ppm (kategori sedang).
2. Aktifitas antifungi ekstrak etanol, kloroform dan n-heksana rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) terhadap *Candida albicans* dinyatakan dalam nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Nilai KHM ekstrak etanol, kloroform dan n heksan rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) terhadap jamur *Candida albicans* adalah 0,78% v/v sedangkan nilai KBM nya sebesar 1,56% v/v. Aktivitas antifungi terbaik dihasilkan oleh ekstrak etanol dengan jumlah pertumbuhan koloni terkecil yaitu 36×10^6 .

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan saran sebagai berikut : Pelarut terbaik yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi rimpang temu mangga adalah pelarut etanol. Namun, perlu dilakukan analisa senyawa fitokimia dan pemisahan senyawa aktif melalui metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan fraksinasi sehingga dapat diketahui secara pasti senyawa yang terlibat dalam mekanisme antioksidan dan antifungi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, F. 2005. *A Labdane Diterpene Glucoside from the Rhizomes of Curcuma mangga*. Universiti Putra Malaysia. Selangor, Malaysia.
- Abdullah, 2007, Lubaabut Tafsir Min Ibni Katsir Jilid 5, Penerjemah M. Abdul Ghafur dan Abu Ihsan al-Astsari, Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i
- Ahmad, Riza Zainuddin. 2013. Pengujian Ekstrak Etanol, Etil Asetat Dan Minyak Atsiri Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L) Lees.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* DAN *Cryptococcus neoformans* Secara In Vitro. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*
- Allison, D., & Gilbert, P., 2004, Bacteria, in Denyer, S.P., Hodges, N.A., & Gorman, S.P. (Eds.), *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*, 7th Ed., Blackwell Science, Massachusetts, USA.
- Al-Mahally, Jalaluddin. Imam, As-Sayuthi. 1990. *Tafsir Jalalain*. Bandung: Sinar Baru Algensindo
- Amirah, 2012. Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*
- Amrun, H.M, Umiyah, & Evi Umayah U, 2007. Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L) dari daerah Jember, *Berkala Penelitian Hayati*, 13 : 45-50.

- Azzahra, V. L. 2015. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.), Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*), Umbi Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Ramuannya. *SKRIPSI*. Jurusan Kimia Fakultas Saintek UIN Malang
- Badarinath, A.V., K.M. Rao, C. M. S. Chetty , S. Ramkanth, T. V. S. Rajan and K. Gnanaprakash. 2010. A review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of Pharmaceutics Technology Research*, 2 (2) : 1276-1285.
- Barnett, H. L. 1969. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Second Edition. Virginia: Burgess Publishing Company
- Belitz, H.D. and W.Grosch. 1999. *Food Chemistry*. Second Edition. Springer Berlin. Berlin.
- Bisby, F.A., Roskov, Y.R., Ruggiero, M.A, Orrell, T.M., Paglinawan, L.E, Brewer, P.W., Bailly, N., & van Hertum, J. (eds)(2007). Species 2000 & ITIS Catalogue of Life: 2007 Annual Checklist, The International Plant Names Index. Species 2000: Reading, U.K
- Branen A.L dan Davidson PM. 1993. *Antimicrobial in Food*. Marcel Dekker. New York
- Brunton, L. 2006. *Goodman dan Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics* (Eleventh Edition). United States: The Mc Graw Hill Companies, Inc
- Cahtim, A., dan Suharto. 1993. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Bina Aksara Rupa. hal.39-52.
- Chaffin, W. L., J. L. Lopez-Ribot, et al. 1998. "Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression." *Microbiol Mol Biol Rev* 62(1): 130-80.
- Chen, I. N., C. Chang, C. Wang, Y. Shyu and T. L. Chang. 2008. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Zingiberaceae Plants in Taiwan. *Plant Foods*. 63:15.
- Darwis, S.N., Indo, M., dan Hasiyah, S. 1991. *Tumbuhan Obat Famili Zingiberaceae*. Pusat Penelitian Pengembangan Tanaman Industri. Bogor.

- Davidson P.M. 2001. *Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. Food Microbiology*. ASM Press, Washington DC.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2005. *Manual Pemberantasan Penyakit Menular*. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- Dewi, D. C., 2007, *Rahasia Dibalik Makanan Haram*. Malang: UIN Press Malang
- Dorman, H. J. D. & Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiology.*, 88, 308–316.
- Dwijajati, Kadek R. 2011. Daya antibakteri minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii* bl.) Terhadap *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. *SKRIPSI*. Fakultas farmasi. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
- Dzen, S.M., Roekistiningsih, S. Santoso & S. Winarsih. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publising
- Endah, N.A. 2008. Optimasi pembuatan ekstrak daun dewantaru (*Eugenia uniflora* L.) menggunakan metode soxhletasi dengan parameter kadar total senyawa fenolik dan flavonoid. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ernawati. 2010. *Urethritis Gonore*. Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya
- Guenther, E. 2011, *Minyak Atsiri*, Jilid 1, UI Press, Jakarta
- Halliwel, B and Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford University Press, New York.
- Ham, M. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Hamilton, R. J. *Rancidity in Foods*, ed., Applied Science, London, 1983, pp. 1–20
- Hanani, E, A. Mun'im, R. Sekarini. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. dari kepulauan seribu. *Majalah kefarmasian*, 2 (3) : 127-133.

- Hanani, E., A. M. Abdul., dan S. Ryany. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia Sp* Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, II (3). Halaman 130
- Handayani dan Sukirno. 2000. Pemanfaatan Jamu Rapat dan Keutihan erta Tradisi yang Menyertai pada Masyarakat Madura. Dalam Purwanto dan Waluyo. *Prosiding Seminar Lokakarya Etnobotani III* Denpasar Bali. Hal 344-350
- Handayani, L dan S. Sukirno. 2000. Pemanfaatan Jamu Rapat dan Keputihan serta Tradisi yang Menyertai Pada Masyarakat Madura. Dalam: Purwanto dan Walujo, E.B. (eds). *Prosiding Seminar Lokakarya Nasional Etnobotani III* Denpasar Bali.
- Haniach M. 2008. Isolasi Jamur Endofit Dari Daun Sirih (*Piper bettle L.*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Eschericia coli*, *Stapilococcus aureus* dan *Candida albicans*. *SKRIPSI*. UIN Malang
- Harborne, 2006. Metode Fitokimia, *Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, terjemahan K. Padmawinata. Edisi II. Bandung :ITB Press.
- Hariana, A.H., 2006, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, Seri 3*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Heinrich, M. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Buku Kedokteran Indonesia. Jakarta.
- Helbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Terj Srigandono. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Heo, S.J.,S.H. Cha., K.W. Lee., S. K. Cho. And Y. J. Jeon. 2005. Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island. *Algae*, 20 (3) : 251-260
- Hernani dan Suhirman, 2001. *Diversifikasi Hasil Tanaman Temu Mangga (Curcuma mangga Val.) secara Terperinci*. UI. Jakarta.
- Houghton PJ and Raman. 1998. *Laboratory Handbook for The Fractination of Natural Extract*. Chapman and Hall, London, UK. 199 Pp.
- Husnah, Muhibbatul. 2009. Golongan Senyawa Antioksidan Ekstrak Kasar Buah Pepino (*Solanum muricatum Aiton*) Berdasarkan Variasi Pelarut. *SKRIPSI*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang Malang.

- Ibrahim A.S. Ahmad, N.A.M. Ali, A.R. Ahmad dan H. Ibrahim, 1999. *Chemical composition of the rhizome oils of four Curcuma species from Malaysia*. J.Essent Oil Res. 11 : 719 – 723
- Inayati, H. 2007. Potensi antibakteri ekstrak daun kedondong bangkok. *Skripsi Departemen Biologi FMIPA. Institut Pertanian Bogor. Bogor*
- Jalip, I. S, Suprihatin. 2013. Antioxidant Activity and Total Flavonoids Content of Curcuma Rhizome Extract. *Proceedings International conference The 4th Green Technology*.
- Jawetz, E., J. L. Melnick dan E. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kesehatan*. Penerbit Buku Kesehatan. Jakarta.
- Jawetz, M. & A., 2008, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 23, hal 300 - 307 EGC, Jakarta
- Jawetz, Melinick, dan Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Salemba Medika. Jakarta : 317 – 318
- Jun, M.H.Y., Yu., J., Fong, X., Wan, C.S, Yang, C.T. and Ho. 2003. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria labata* Ohwl). *J. Food Sci. Institute of Technologist*. 68: 2117–2122.
- Juniarti, D. Osmeli dan Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* l.). *Makara Sains*, 13 (1): 50-54.
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Cetakan ke VI. 2001. Jakarta : Universitas Indonesia Press
- Kusmiyati dan N.W. S. Agustini. 2006. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong. *Biodiversitas*, 8: 48-53
- Kusmiyati. 2011. Isolasi dan Identifikasi Zat Aktif Ekstrak Metanol Kunyit Rimpang Putih (*Curcuma mangga* Val.) Fraksi Etil Asetat. *Jurnal Kefarmasian*. Vol 1 No 2:1-10
- Kusmiyati. 2011. Isolasi dan Identifikasi Zat Aktif Ekstrak Metanol Kunyit Rimpang Putih (*Curcuma mangga* Val.) Fraksi Etil Asetat. *Jurnal Kefarmasian*. Vol 1 No 2:1-10

- Lailiyah, Ahwalul. 2014. Kapasitas Antioksidan Dan Kandungan Total Senyawa Fenolik Ekstrak Kasar Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Dari Pantai Sumenep Madura. *ALCHEMY* Vol.3 No. 1
- Lajis, N. H. 2007. Recent Aspect of Natural Products Research and Development in Malaysia. International Symposium Biology, Chemistry, Pharmacology, and Clinical Studies of Asian Plants. Surabaya-Indonesia.
- Limbong, Theresia. 2007. *Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Batang Pakettu (Ficus superba Miq) Terhadap Folikulogenesis Ovarium Mencit (Mus musculus)*. Dalam abstrak jurnal penelitian. Surabaya : Universitas Airlangga
- Liu Yunbao and Muraleedharan G. Nair. 2012. *Curcuma Longa and Curcuma Mangga Leaves Exhibit Functional Food Property*. Elsevier, Food Chemistry 135.
- Lowy, F. 2003. Gram positive : the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clinic Invest*. 111(9): 1265-1273.
- Mahon, C.R., & Manuselis, J.R., 1995, Textbook of Diagnostic Microbiology, WB Saunders Company, Philadelphia USA.
- Matanjon P, S Mohamed, NM Mustapha, K Muhammad and CH Ming. 2008. Antioxidant activities and phenolic content of eight species of seaweed from north borneo. *Journal Applied Phycology*. 20:367-373.
- Meilisa. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Dan Formulasi Dalam Sediaan Kapsul Dari Ekstrak Etanol Rimpang Tumbuhan (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Beberapa Bakteri. *SKRIPSI*. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Mikamo E, Y. Okada, A. Semma, Y. Otto, dan Morimoto I. 2000. Studies On Structural Correlation- Ship with Antioxidant Activity of Flavonoids. *Jpn. Journal Food Chemistry*. Vol.7 (2): 93-101.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar J. Science Technology*, Vol. 26 (2) : 211-219.
- Muliawan, Sylvia. 2001. Diagnosis Praktis Vaginosis Bakterial Pada Kehamilan. *Jurnal Kedokteran Trisakti* Vol. 20 No 2:74 – 8

- Murniana. 2011. Antifungal Activity From Seed Of *Carbera odollam* Against *Candida albicans*. *Jurnal Natur*. Vol. 11, No. 1
- NCBI. 2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy> (diakses pada tanggal 18 April 2015, pukul 15.40 WIB)
- Newman, M., Lhuillier, A., & Poulsen, A.D. 2004. Checklist of the Zingiberaceae of Malesia. *Blumea Supplement* 16, 22-23
- Nur, N. A. dan H. Adijuana. 1989. *Teknik Pemisahan dalam Analisis Biokimia*. PAU Ilmu Hayat, IPB, Bogor
- Nurhayati, Iroh. 2007. Aktivitas AntiFungi Ekstrak (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Alternaria porri* Ellis Secara In vitro. *SKRIPSI*. FMIPA UPI
- Nychas, Tassou. 2000. Tradicional preservatives-oil and spices. *Encyclopedia of food microbiology* volume 1. Academy Press London.
- Odds, F. C. 1988. *Candida and candidosis*. Bailliere Tindall, Philadelphia, PA
- Padiangan, M. 2010. Stabilitas Antimikroba Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Mikroba Patogen. *Media Unika*. Vol 73 No 4: 365-373.
- Pages, 2013. *Optimizing Natural Infertility*. American Society of Reproductive Magazine
- Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H and Zhao, Z. 2009. The acid, Bile Tolerance and Antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Journal Food Control* 20: 598-602
- Pelczar, MJ dan E. C. S Chan. 2009. *Mikrobiologi*. Penerjemah Hadi Oetomo, R. S, dan Tjitrosomo, S. L. Jakarta: Penerbit UI Jakarta
- Pokornya J., Yanishlieva N and Gordon M .2001. Antioxidants in food. Practical Applications.1-123. *Wood Publishing Limited*. Cambridge. England.
- Policegoudra, R.S., & Aradhya, S.M. 2007. Structure and biochemical properties of starch from an unconventional source- a mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) rhizome. *Food Hydrocoll* 22, 513–519

- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. Medallion Laboratories. *Analytical Progress*. Volume 19. Number 2. Hal 1-4.
- Pramono, E. 2005. Perkembangan dan prospek industri obat tradisional Indonesia. *Prosiding seminar nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI*. F. Farmasi Ubaya, Surabaya : 18- 27
- Pujimulyani, D., A. Wazyka, S. Anggrahini, and U. Santoso. 2004. Antioxidative Properties of White Saffron Extract (*Curcuma mangga* Val.) in The β -Carotene Bleaching and DPPH-Radical Scavenging Methods. *Indonesian Food and Nutr. Progress*. Vol. 2 No 2: 35-40.
- Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan. 2003. *Bakteriologi Klinik*. Jakarta : Depkes RI.
- Rao M.N.A. 1997. Antioxidant properties of curcumin, In:Pramono, S., U.A. Jenie, S.S. Retno, and G. Didik (eds.). *Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacochemistry (ISCP)*, 39-47. Yogyakarta: Faculty of Pharmacy Gadjah Mada University.
- Ried dan Stuart. 2012. *Enhancing Fertility with Traditional Herbal Chinese Medicine*. 28 (1), 12-20
- Rifa'i. 2000. *Pingit, Pijat dan pepahit : Peran Tumbuhan dalam Kosmetik Tradisional Indonesia seperti Dicerminkan di Daerah Madura* <http://dbp.gov.my/mab2000/penerbitan/rampak/rspijet21.pdf>
- Rita, W. S., 2009, Penapisan Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.). *Medicina*, 40(2): 104-108.
- Rita, W. S., Puspawati, N. M, Marlin Wijayanti, N. P, 2008, Aktivitas Antijamur dan Antioksidan Minyak Atsiri Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria*Rosc.), Proceeding SNHKI,ISBN 978-979-8286-83-4.
- Roupa Z.,Polikandrioti M.,Sotiropoulou P.,Faros E.,Koulouri A.,Wozniak G.,Gourni M.. 2009. Causes Of Infertility In Women At Reproductive Age. *Health science journal*. Vol 3, No 2.
- Rukmana, R. 2004. *Temu-temuan Apotik Hidup di Perkarangan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Saman, Sri Iin, Nurhayati Bialangi, Wenny J. A. Musa. 2013. *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak*

Metanol Rimpang Jeringau. Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo.

- Saustromo S S. 1990. *Ekologi Gulma*. Jakarta: Pustaka Utama
- Septiana AT, dan A Asnani. 2012. Kajian ekstraksi rumput laut coklat *Sargassum* sp sebagai penghambat oksidasi LDL dan akumulasi kolesterol makrofag. [Laporan Penelitian UNSOED. Purwokerto]
- Setiawan. 2006. Taksonomi Tanaman Teh (*Camellia sinensis*). Dalam: Mia Rusmila (Editor). *Karya Tulis Ilmiah: Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Teh (Camellia sinensis)*. Palembang, Indonesia. Halaman 4-5
- Sharma, S.C. 1976. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochemical Pharmacology* 25: 1811-1812.
- Simatupang, M. M. 2009. *Candida albicans*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU
- Sinaga et al., 2011. Perbandingan Daya Sitotoksik Ekstrak Rimpang 3 Jenis Tumbuhan Zingiberaceae Terhadap Sel Kanker Mcf-7. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 5 No. 3: 125 -133
- Steenis, Van C.G.G.J. 2005, *Flora*, PT. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Subandi. 2010. *Mikrobiologi*. Rosda: Jakarta
- Sudarmadji, Slamet., dkk. 1989. *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Liberty.
- Sudewo. 2006. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. PT. AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Sudiarto K.Mulya, Gusmaini, H. Muhammad, N. Maslahah dan Emmyzar. 1998. Studi Peranan Bahan Organik dan Pola Tanam Organik Farming untuk Kesehatan dan Produktivitas Jahe. *Lap.Tek Balitro*. 51 – 58.
- Sukara, E., 2000. Sumber daya alam hayati dan pencarian bahan baku obat (Bioprospekting). *Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan Aromatik. Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor* : 31-37.
- Sumarny, Ros. Kadar kurkumin dan potensi antioksidan ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria (Berg) Roscoe.*), temu magga (*Curcuma*

mangga Val et Zyp.) dan temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb).
Prosiding Seminar Nasional POKJANAS TOI XLII. Universitas Jendral
Ahmad Yani Cimahi.

Sunarko, Martodihardjo. 2008. *Urethritis Gonore dan Non Gonore Diagnosis dan Pelaksanaan* 1: 1-7

Sunarni T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2), 2001, 53-61.

Sundari, D., P. Kosasih dan K. Ruslan. 1996. Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Tesis*. Jurusan Farmasi. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Supriyono, A. 2007. Aktivitas Antioksidan Beberapa Spesies Rumput Laut dari Pulau Sumba. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 9 (1) : 34-38.

Supriyono, Agus. 2007. Aktivitas Antioksidan Beberapa Spesies Rumput Laut Dari Pulau Sumba. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* Vol. 9 No. 1

Suyitno, Haryadi, Supriyanto, Budi S, Haryanto D, Adi D.G, Wahyu S. 1989. Petunjuk Laboratorium Rekayasa Pangan. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.

Tamat, S. R., T. Wikanta dan L . S. Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5 (1) : 31-36.

Tedjo, A., D. Sajuthi, dan L. K. Darusman. 2005. Aktivitas Kemoprevensi Ekstrak Temu Mangga. *Makara, Kesehatan*, Vol. 9, No. 2, Desember 2005: 57-62.

Tewtrakul, S. and S. Subhadhirasakul. 2007. Anti-allergic Activity of Some Selected Plants in The Zingiberaceae Family. *Journal of Ethnopharmacology* 109, 535-538.

Tjitrosoepomo, G. 1992. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: UGM Press

Tjitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: UGM Press

- Tonnesen, H.H., and J.V. Greenhill. 1992. Studies on curcumin and curcuminoids. XXII: Curcumin as a reducing agent and as a radical scavenger. *International Journal of Pharmaceutics* 87: 79-87.
- Trilaksani. 2003. Aktivitas Antioksidan dan Imunomodulator Serialia Non Beras. *Skripsi*. Bogor: Jurusan Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Vadlapudi, V., Kaladhar, M. J. Paul., Kumar and M Behara. 2012. Antioxidant Activities of Marine Algae : A Review. *International Journal of Recent Scientific Research*, 3 (7): 574-580.
- Velayudhan, K.C., Muralidharan, V.K., Amalraj, V.A., Gautam, P.L., Mandal, S., & Dinesh Kumar (1999). Curcuma genetic resources: Scientific Monograph(4). In: National Bureau of Plant Genetic Resource, Regional Station Trissur. New Delhi: National Bureau of Plant Genetic Resources
- Voight, R.. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, Vol. 10 (1) : 10 – 17.
- WHO, 2003, Traditional medicine, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>, diakses April 2015.
- WHO. 2004. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. <http://www.who.int/medicinedocs/collect/medicinedocs/pdf/whozip42e/whozip42e.pdf>
- WHO. 2011. Electromagnetic fields and public health: mobile telephones and their base stations. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs193/en/>
- Winarsi, Hery., et al. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Kanisius, Yogyakarta, Indonesia.
- Winata, Trisyati. 2006. Aktivitas antijamur air perasan rimpang lengkuas merah (alpinia galanga var. Rubrum) terhadap candida albicans secara in vitro. *Jurnal Penelitian*.
- Yenie, Elvi. 2013. Pembuatan Pestisida Organik Menggunakan Metode Ekstraksi dari Sampah Daun Pepaya dan Umbi Bawang Putih. *Jurnal Teknik Lingkungan UNAND* 10 (1): Hal 48.
- Yuandani. 2011. Uji Aktivitas Antikanker (Preventif dan Kuratif) Ekstrak Etanol Temu Mangga (Curcuma Mangga Val.) Pada Mencit yang Diinduksi

Siklofosfamid. Artikel Penelitian *Majalah Kesehatan PharmaMedika*, Vol.3,

Zamrodi, M. 2011. Uji Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Tanaman Anting-anting (*Acalypha Indica L.*).

Zuhud, 2003. Pengembangan Tumbuhan Obat Berbasis Konsep Bioregional. *Makalah Filsafat Sains*. Program Pascasarjana IPB Bogor.