

**POTENSI KOMBINASI EKSTRAK AIR DARI *Curcuma mangga* Val.,  
*Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI *Candida albicans* SECARA *IN-VITRO***

**SKRIPSI**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2015**

**POTENSI KOMBINASI EKSTRAK AIR DARI *Curcuma mangga* Val.,  
*Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI *Candida albicans* SECARA *IN-VITRO***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri  
Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh :**

**LUSI AGITA RAHMAWATI**

**11620008**

**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**

**MALANG**

**2015**

**POTENSI KOMBINASI EKSTRAK AIR DARI *Curcuma mangga* Val.,  
*Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI *Candida albicans* SECARA IN-VITRO**

**SKRIPSI**

Oleh :

**LUSI AGITA RAHMAWATI**

**NIM. 11620008**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :

Tanggal 30 Oktober 2015

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II



Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si

Mujahidin Ahmad, M.Sc

NIP. 19710919 200003 2 001

NIPT. 2013 0902 1313

Tanggal 2 November 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002

**POTENSI KOMBINASI EKSTRAK AIR DARI *Curcuma manga* Val.,  
*Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI *Candida albicans* SECARA IN-VITRO**

**SKRIPSI**

Oleh :

**LUSI AGITA RAHMAWATI**

**NIM. 11620008**

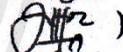
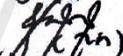
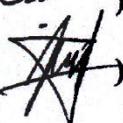
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 30 Oktober 2015

**Susunan Dewan Penguji**

- |                  |   |
|------------------|---|
| 1. Penguji Utama | Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si<br>NIP. 19650509 199903 2 002           |
| 2. Ketua         | Anik Maunatin, M.P<br>NIP. 2014 0201 2412                         |
| 3. Sekretaris    | <u>Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si</u><br>NIP. 19710919 200003 2 001 |
| 4. Anggota       | <u>Mujahidin Ahmad, M.Sc</u><br>NIPT. 2013 0902 1313              |

**Tanda  
Tangan**

(  )  
(  )  
(  )  
(  )

Mengesahkan,  
Ketua jurusan biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Teriring do'a dan rasa syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga bisa menyelesaikan tugas akhir ini. Sholawat serta salam tetap terucapkan kepada Nabi Muhammad SAW sebagai tauladan bagi umatnya. Dan tak lupa kupersembahkan karya ini kepada:

Kedua orang tuaku, Bapak Surahman dan Ibu Sunarsih yang telah memberikan kasih sayang, do'a sepanjang hari, dorongan spiritual dan material, memberikan semangat motivasi untuk terus maju, memberikan kesempatan untuk saya melanjutkan ke jenjang Sarjana, serta memberikan seluruh apa yang telah mereka miliki, serta do'a restunya di dalam hidup ini untuk mencapai cita-cita.

Adik-adikku Muhammad Ghufron dan Bagus Dwi Rahmawan yang memberikan warna-warni dalam setiap langkah dan alur yang saya lalui. Segenap Dosen serta Laboran yang menjadi pelita dalam studiku sehingga saya dapat memperoleh berbagai ilmu pengetahuan dan pengalaman yang sangat berarti.

Teruntuk teman-teman seperjuangan sewaktu di Laboratorium (Ifa, Sinta, Hasan, Vela, Fitri, Afif, Weng, Pipit, Chiki, Fina, Yudrik, Yanti, Bety, Mbak Ela) serta banyak teman lainnya yang mendukung dan membantu sewaktu kerja di Laboratorium.

Segenap teman-teman Biologi angkatan 2011 yang memberikan corotan-  
corotan dalam semua hal semoga silaturahmi ini tetap terjaga selalu dan  
terimakasih atas motivasi kalian. Semoga sukses selalu buat kita semua.  
Teman-teman yang menampung curhatan-curhatanku dalam hal apapun itu  
(Dipi, Windy, Mbak Firda, Ihda, Hesty) terimakasih sudah mengenaliku,  
mengajari dalam hal apapun yang akan menjadikan pengalaman tersendiri  
buat saya.

Teruntuk seseorang yang selalu membuat sensasi dalam keseharian saya.

Tangis dan tawa, suka maupun duka semuanya terlewati bersama.

Terimakasih motivasi yang diberikan (O\*). Tak lelah membimbing dan  
memberikan hal-hal baru dalam hidup saya.

## MOTTO

Menjalani hidup itu tidaklah mudah. Berdo'a, berusaha, tawakkal dan berikhtiar kunci dalam menjalani hidup. Tidak ada yang tidak mungkin. Kunci kesuksesan tiap orang tidaklah sama, namun pasti ada cara sendiri kesuksesan yang akan diraih dalam tiap insan.

فَبِأَيِّ آلَاءِ رَبِّكُمَا تُكَذِّبَانِ ﴿١٣﴾

Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?  
(QS. Ar-Rahmaan :13)

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lusi Agita Rahmawati  
NIM : 11620008  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Skripsi : Potensi Kombinasi Ekstrak Air Dari *Curcuma mangga* Val.,  
*Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. Terhadap Aktivitas  
Antioksidan dan Antifungi *Candida albicans* Secara In-Vitro

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir atau skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 28 Oktober 2015

Yang membuat pernyataan,



Lusi Agita Rahmawati

NIM. 11620008

## PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB LATIN

Penulisan transliterasi Arab-Latin dalam skripsi ini menggunakan pedoman transliterasi berdasarkan keputusan bersama Menteri Agama RI dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan RI no.158 tahun 1987 dan no.0543 b/U/1987 yang secara garis besar dapat diuraikan sebagai berikut:

### 1. Konsonan

No	Arab	Latin	No	Arab	Latin
1	ا	Tidak dilambangkan	16	ط	t
2	ب	b	17	ظ	z
3	ت	t	18	ع	'
4	ث	ṡ	19	غ	g
5	ج	j	20	ف	f
6	ح	ḥ	21	ق	q
7	خ	kh	22	ك	k
8	د	d	23	ل	l
9	ذ	z	24	م	m
10	ر	r	25	ن	n
11	ز	z	26	و	w
12	س	s	27	ه	h
13	ش	sy	28	ء	'
14	ص	ṡ	29	ي	y
15	ض	ḍ			

### 2. Vokal Pendek

ا = a    كَتَبَ kataba	ا... = ā    قَال qāla	
ي = i    سِئِلَ su'ila	إِي = ī    قِيل qīla	
و = u    يَذْهَبُ yažhabu	أُو = ū    يَقُولُ yaqūlu	

### 3. Vokal Panjang

### 4. Diftong

أَي = ai    كَيْفَ kaifa
أُو = au    حَوْلَ ḥaula

## KATA PENGANTAR



Syukur *Alhamdulillah* penulis haturkan kehadiran Allah ﷻ yang telah memberikan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya serta atas segala nikmat yang tidak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). *Shalawat* dan salam tetap selalu tucurahkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad ﷺ. Karena Beliaulah yang mengubah kegelapan peradaban jahiliyah menjadi terang benderang melalui cahaya Islam dan ilmu pengetahuan hakiki.

Kiranya penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini telah mendapatkan banyak bantuan dan dorongan semangat dari berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Ayah, Ibu, saudara-saudara dan keluargaku tercinta yang telah mendidik dan selalu memberikan kasih sayang dengan sepenuh hati dan telah memberikan do'a restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah ﷻ selalu menaungi mereka dan kemudian kelak dikumpulkan di Surga-Nya.
2. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo dan Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang menjabat selama penulis menyelesaikan studi. Semoga Beliau selalu menjadi tauladan yang baik.
3. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang yang telah memberikan arahan kepada penulis melalui kebijakan-kebijakannya dan menjadi teladan bagi penulis.
4. Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd dan Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang yang selalu memberikan nasehat dan koreksi positif terhadap menulis selama kuliah di Jurusan Biologi UIN Maliki Malang.

5. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dosen Pembimbing skripsi dan Elok Kamilah Hayati, M.Si beserta Anik Maunatin, M.Pi selaku konsultan yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan tekun dan sabar.
6. Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.
7. Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si dan Anik Maunatin, M.P selaku Dosen Penguji yang telah memberi masukan dan saran-saran yang membangun kepada penulis.
8. Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si selaku Dosen Wali yang telah membimbing penulis baik akademik maupun non akademik dan selalu memberikan dorongan motivasi agar penulis tetap progres dalam menempuh studi di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Arsinta Sulistyorini, Yuni Ma'rifatul Afifah, Muhammad Nur Hasan, Fitri Nurul Mumainah dan Velayaty Labone Azzahra, S.Si selaku tim peneliti proyek Dosen Jurusan Biologi-Kimia-Farmasi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang tidak henti-hentinya memberikan masukan, semangat dan saling melengkapi satu sama lain.
10. Mahrus Ismail, M.Si, Retno Novitasari D., S.Si, Moh. Basyarudin, S.Si, Lil Hanifah, S.Si, Murtadlo Zulfan, S.Si, Zaimatul Khoiroh, S.Si, Rika Dian Novitasari, S.Si, M. Chalid Al-Ayyubi, S.Si, Slamet Riyanto, A.Md, S.Pd (Mikrobiologi FK UNIBRAW), Joko Trisilo Wahono, S.Pd (Biomedik FIK UMM), Lamijan, S.E (UPT. Materia Medica Batu) selaku laboran dan karyawan setempat yang telah meluangkan waktunya untuk membantu kinerja selama penelitian berlangsung, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
11. Seluruh staff Jurusan Biologi maupun Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah membantu kelancaran penulis selama mengurus apapun berkenaan dengan akademik maupun non akademik.

12. Mahasiswa Biologi Angkatan 2011 yang telah memberikan warna hidup dengan beribu kisah, semangat, kebersamaan, persaudaraan serta kekeluargaan selama kuliah yang tidak akan pernah bisa terlupakan.
13. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril, khususnya teman-teman di UKM Paduan Suara Mahasiswa UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Karena kesempurnaan hanya milik Allah ﷻ. Untuk itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. *Amin Yaa Rabbal Alamiin.*

Malang, 28 Oktober 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>PEDOMAN TRANSLITERASI .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Hipotesis Penelitian .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	7
1.6 Batasan Masalah .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tumbuhan dalam Perspektif Islam. ....	8
2.2 Tinjauan Umum Temu Mangga ( <i>Curcuma mangga</i> Val.)	
2.2.1 Klasifikasi .....	12
2.2.2 Morfologi. ....	12
2.2.3 Kandungan Kimia. ....	13
2.2.4 Khasiat dan Kegunaan. ....	13
2.3 Tinjauan Umum Jeringau ( <i>Acorus calamus</i> L.)	
2.3.1 Klasifikasi. ....	14
2.3.2 Morfologi. ....	14
2.3.3 Kandungan Kimia . ....	16
2.3.4 Khasiat dan Kegunaan. ....	16
2.4 Tinjauan Umum Bawang Putih ( <i>Allium sativum</i> Linn.)	
2.4.1 Klasifikasi. ....	18
2.4.2 Morfologi. ....	18
2.4.3 Kandungan Kimia. ....	19
2.4.4 Khasiat dan Kegunaan. ....	21
2.5 Ekstraksi.....	22
2.6 Pelarut Air.....	25
2.7 Maserasi.....	26
2.8 Radikal Bebas.....	27
2.9 Antioksidan	

2.9.1	Definisi dan Fungsi.....	28
2.9.2	Penggolongan Antioksidan.....	30
2.9.3	Sumber Antioksidan.....	31
2.9.4	Metode DPPH.....	32
2.9.5	Mekanisme Kerja Antioksidan.....	36
2.10	Spektrofotometri UV-Vis.....	38
2.11	Antifungi	
2.11.1	Definisi.....	41
2.11.2	Mekanisme Kerja.....	41
2.11.3	Pengukuran Aktivitas Antifungi.....	42
2.11.4	Uji Antimikroba.....	42
2.11.4.1	Metode Difusi.....	43
2.11.4.2	Metode Dilusi.....	44
2.11.5	Pertumbuhan dan Perkembangan Bakteri.....	46
2.12	Jamur <i>Candida albicans</i>	
2.12.1	Morfologi.....	47
2.12.2	Patogenitas.....	49
2.13	Uji Fitokimia Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn.....	52
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>		
3.1	Rancangan Penelitian.....	53
3.2	Tempat dan Waktu.....	53
3.3	Variabel Penelitian	
3.3.1	Variabel Bebas.....	53
3.3.2	Variabel Terikat.....	54
3.3.3	Variabel Terkontrol.....	54
3.4	Alat dan Bahan	
3.4.1	Alat.....	55
3.4.2	Bahan.....	55
3.5	Prosedur Penelitian	
3.5.1	Preparasi Sampel.....	55
3.5.2	Ekstraksi Kombinasi 1,2 dan 3 dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn dengan Metode Ekstraksi.....	58
3.6	Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH	
3.6.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	58
3.6.2	Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan.....	58
3.6.3	Pengukuran Potensi Antioksidan Pada Sampel.....	59
3.7	Uji Aktivitas Antifungi	
3.7.1	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	60
3.7.2	Pembuatan Media SDA.....	60
3.7.3	Pembuatan Media SDB.....	61
3.7.4	Pembuatan Larutan Uji.....	61
3.7.5	Peremajaan biakan murni Jamur <i>Candida albicans</i> .....	61
3.7.6	Pembuatan Suspensi jamur <i>Candida albicans</i> .....	62

3.8 Uji Antifungi <i>Candida albicans</i> pada masing-masing Kombinasi Ekstrak Air <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn. ....	62
3.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). ....	63
3.10 Perhitungan Koloni Bakteri secara “ <i>Pour Plate</i> ”. ....	65
3.11 Analisis Data	
3.11.1 Analisis Data Uji Antioksidan. ....	66
3.11.2 Analisis Data Uji Antifungi. ....	66

#### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Uji Antioksidan Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn.	
4.1.1 Hasil Rendemen Kombinasi Ekstrak Air. ....	68
4.1.2 Hasil Uji Antioksidan dengan Metode <i>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil</i> (DPPH). ....	69
4.2 Kandungan Senyawa Kimia Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn. ....	81
4.3 Uji Aktivitas Antifungi dari Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn. Terhadap <i>Candida albicans</i> . ....	83
4.4 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn. ....	90
4.5 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn. ....	95

#### **BAB V PENUTUP**

5.1 Kesimpulan. ....	99
5.2 Saran. ....	100

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> . ....	101
------------------------------	-----

<b>LAMPIRAN</b> . ....	114
------------------------	-----

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil Uji Fitokimia Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn. ....	52
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn.....	68
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran % Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Air dan Pembanding. ....	78
Tabel 4.3 Hasil nilai IC <sub>50</sub> pada Masing-Masing Kombinasi Ekstrak Air dan Vitamin C. ....	80
Tabel 4.4 Hasil Rata-Rata Diameter Zona Hambat dari Masing-Masing Kombinasi Ekstrak Air dan Kontrol Pembanding.....	84
Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Kualitatif Uji KHM Kombinasi Ekstrak Air Terhadap <i>Candida albicans</i> .....	93
Tabel 4.6 Hasil Uji KBM Kombinasi Ekstrak Air dari <i>Curcuma mangga</i> Val., <i>Acorus calamus</i> L., dan <i>Allium sativum</i> Linn.....	97

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rimpang Temu Mangga.....	12
Gambar 2.2 Tanaman Jeringau. ....	14
Gambar 2.3 Struktur $\alpha$ -Asaron dan $\beta$ -Asaron.....	16
Gambar 2.4 Umbi Bawang Putih. ....	18
Gambar 2.5 Orientasi besarnya reduksi DPPH oleh gugus hidroksil. ....	35
Gambar 2.6 Reaksi Penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida. ....	37
Gambar 2.7 Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru.37	
Gambar 2.8 Reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal. ....	38
Gambar 2.9 Jamur <i>Candida albicans</i> .....	48
Gambar 4.1 Mekanisme Peredaman Radikal DPPH.....	77
Gambar 4.2 Hasil Uji KBM Masing-Masing Kombinasi pada Media SDA.97	

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja .....	114
Lampiran 2. Perhitungan Hasil Rendemen Maserasi.....	122
Lampiran 3. Perhitungan Hasil Uji .....	123
Lampiran 4. Hasil Penelitian.....	127
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	137



## ABSTRAK

Rahmawati, Lusi Agita. 2015. **Potensi Kombinasi Ekstrak Air Dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi *Candida albicans* Secara In-Vitro**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Dosen Pembimbing: Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si dan Mujahidin Ahmad, M.Sc

---

**Kata kunci :** Kombinasi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., *Allium sativum* Linn., Antioksidan, Antifungi, *Candida albicans*, Air

Tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat dan bahan komposisi jamu. Salah satu produk jamu yang memanfaatkan tumbuhan yaitu jamu subur kandungan Madura yang sering digunakan untuk solusi infertilitas perempuan. Tumbuhan yang menjadi ramuan dalam jamu subur kandungan adalah temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.). *Candida albicans* penyebab yang paling umum dari vulvovaginitis. Pertumbuhan *Candida albicans* dapat dihambat oleh senyawa triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antifungi *Candida albicans* dari kombinasi tanaman *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.

Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif. Pada uji antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) sedangkan pada uji antifungi menggunakan uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari masing-masing kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. pada uji antioksidan mempunyai nilai IC<sub>50</sub> pada K1 (202.7 ppm); K2 (431.9 ppm); dan K3 (420.9 ppm). Pada uji KHM K1, K2 dan K3 yang mempunyai nilai hambat minimum terletak pada konsentrasi 1,56% sedangkan pada uji KBM K1, K2 dan K3 yang mempunyai nilai bunuh minimum terletak pada konsentrasi 3,13%. Hasil diatas menunjukkan bahwa uji potensi aktivitas antioksidan yang terbaik terletak pada kombinasi K1 dan uji potensi antifungi yang terbaik terletak pada kombinasi K3.

## ABSTRACT

Rahmawati, Lusi Agita. 2015. **Potential Water Extract Combination of *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., and *Allium sativum* Linn. on the Antioxidant and Antifungi Activity against *Candida albicans* by *In-Vitro*.** Thesis. Biology department, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Advisors: Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si and Mujahidin Ahmad, M.Sc

---

**Keywords :** Combination *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., *Allium sativum* Linn., Antioxidant, Antifungal, *Candida albicans*, Water

The plants can be used as medicine and substantial composition of *Jamu* (Indonesian traditional herbal medicine). One of the *Jamu* products which utilize herbal plants is Maduranese herbs fertile womb which is frequently used for female infertility solutions. Plant becoming the herb ingredients in herbal medicine is fertile womb curcuma mango (*Curcuma mangga* Val.), Rhizome Jeringau (*Acorus calamus* L.) and garlic (*Allium sativum* Linn.). *Candida albicans* is the most common cause of vulvovaginitis. The growth of *Candida albicans* can be stopped by triterpenoids compounds. This study aims to determine the *Candida albicans* antioxidant and antifungal activities from plant combination of *Curcuma mangga* Val., *Acorus Calamus* L., and *Allium sativum* Linn.

This research was descriptive qualitative. The antioxidant test used the DPPH method (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) where as, the antifungal test used Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Extinguishing Concentration (MEC) test.

The result of study indicates that each water extract of combination out of *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., and *Allium sativum* Linn. on the antioxidant test possess IC<sub>50</sub> values in the K1 (202.7 ppm); K2 (431.9 ppm); and K3 (420.9 ppm). In the MIC test K1, K2 and K3 which have minimum inhibitory value lies in the minimum inhibitory concentration of 1.56%, while the test MEC K1, K2 and K3 which has minimum extinguish value lies in the concentration of 3.13%. The result above shows that the best potential antioxidant activity test lies in the combination of K1 and the best potential antifungal test lies in the combination of K3.

## مستخلص البحث

لوسي اغيتا رحمواتي، 2015، امكانية مجموعة المقتطف المائي من جورجما منجا فال، اجوروس جلاموس و الليوم ستفوم لين على نشاط المضادة الاكسدة والمضادة الفطريات "جنديدا البجانس" بطريقة انن فطرو، البحث الجامعي، قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولي: الدكتور بينة المخترمة الماجستير، والمشرف الثاني: مجاهدين احمد الماجستير.

الكلمات الأساسية: مجموعة من جورجما منجا فال، اجوروس جلاموس و الليوم ستفوم لين على نشاط المضادة الاكسدة والمضادة الفطريات "جنديدا البجانس" ، ماء.

ان النباتات تستخدم أدوية وأعشاب. و احد من المنتجات الأعشاب الذي يستخدم من النبات هو اعشاب "رحم خصبة" من مادوري الذي يستخدم لحلول حصوية المرأة. واما النبات المستخدم للطهو وهو تومو منجا، رمفاغ جريغوو وبصل. واما "جنديدا البجانس" سببا عاما من فولفواغنتيس وهذا النبات يثبط مركبات التريتورفينيد.

والأهداف المرجوة في هذا البحث وهي لمعرفة نشاط المضادة الاكسدة والمضادة الفطريات "جنديدا البجانس" من مجموعة النبات جورجما منجا فال، اجوروس جلاموس و الليوم ستفوم لين.

واما المدخل في هذا البحث وهو بالنوع الوصفي الكيفي وفي اختبار المضادة الاكسدة باستخدام طريقة DPPH (1،1-ديفونيل - 2-فجرهدرزيل) واما في اختبار المضادة باستخدام اختبارا تركيزا التثبيطا الأدنى وتركيزا قتلا الأدنى.

واما النتائج في هذا البحث تدل على ان في كل مجموعة المائي من جورجما منجا فال، اجوروس جلاموس و الليوم ستفوم لين. واما في اختبار المضادة الاكسدة وهو  $IC_{50}$  في K1 حوالي 202,7 ppm، K2 حوالي 431,9 ppm و K3 حوالي 420,9 ppm. وفي اختبار KHM في K1، K2 و K3 نتيجة تثبيطا ادنى التي تقع في تركيز وهو 1,56% واما في اختبار KBM في K1، K2 و K3 نتيجة قتلا ادنى التي تقع في تركيز وهو 3,13%. وانطلاقا الأعلاه تدل على ان امكانية من نشاط المضادة الاكسدة أفضل تقع في مجموعة K1 واختبار المضادة الفطرية أفضل في مجموعة K3.

## ABSTRAK

Rahmawati, Lusi Agita. 2015. **Potensi Kombinasi Ekstrak Air Dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi *Candida albicans* Secara In-Vitro.** Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Dosen Pembimbing: Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si dan Mujahidin Ahmad, M.Sc

---

**Kata kunci :** Kombinasi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., *Allium sativum* Linn., Antioksidan, Antifungi, *Candida albicans*, Air

Tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat dan bahan komposisi jamu. Salah satu produk jamu yang memanfaatkan tumbuhan yaitu jamu subur kandungan Madura yang sering digunakan untuk solusi infertilitas perempuan. Tumbuhan yang menjadi ramuan dalam jamu subur kandungan adalah temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.). *Candida albicans* penyebab yang paling umum dari vulvovaginitis. Pertumbuhan *Candida albicans* dapat dihambat oleh senyawa triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antifungi *Candida albicans* dari kombinasi tanaman *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.

Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif. Pada uji antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) sedangkan pada uji antifungi menggunakan uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari masing-masing kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. pada uji antioksidan mempunyai nilai IC<sub>50</sub> pada K1 (202.7 ppm); K2 (431.9 ppm); dan K3 (420.9 ppm). Pada uji KHM K1, K2 dan K3 yang mempunyai nilai hambat minimum terletak pada konsentrasi 1,56% sedangkan pada uji KBM K1, K2 dan K3 yang mempunyai nilai bunuh minimum terletak pada konsentrasi 3,13%. Hasil di atas menunjukkan bahwa uji potensi aktivitas antioksidan yang terbaik terletak pada kombinasi K1 dan uji potensi antifungi yang terbaik terletak pada kombinasi K3.

## ABSTRACT

Rahmawati, Lusi Agita. 2015. **Potential Water Extract Combination of *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., and *Allium sativum* Linn. on the Antioxidant and Antifungi Activity against *Candida albicans* by *In-Vitro***. Thesis. Biology department, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Advisors: Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si and Mujahidin Ahmad, M.Sc

---

**Keywords :** Combination *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., *Allium sativum* Linn., Antioxidant, Antifungal, *Candida albicans*, Water

The plants can be used as medicine and substantial composition of *Jamu* (Indonesian traditional herbal medicine). One of the *Jamu* products which utilize herbal plants is Maduranese herbs fertile womb which is frequently used for female infertility solutions. Plant becoming the herb ingredients in herbal medicine is fertile womb curcuma mango (*Curcuma mangga* Val.), Rhizome Jeringau (*Acorus calamus* L.) and garlic (*Allium sativum* Linn.). *Candida albicans* is the most common cause of vulvovaginitis. The growth of *Candida albicans* can be stopped by triterpenoids compounds. This study aims to determine the *Candida albicans* antioxidant and antifungal activities from plant combination of *Curcuma mangga* Val., *Acorus Calamus* L., and *Allium sativum* Linn.

This research was descriptive qualitative. The antioxidant test used the DPPH method (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) where as, the antifungal test used Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Extinguishing Concentration (MEC) test.

The result of study indicates that each water extract of combination out of *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., and *Allium sativum* Linn. on the antioxidant test possess IC50 values in the K1 (202.7 ppm); K2 (431.9 ppm); and K3 (420.9 ppm). In the MIC test K1, K2 and K3 which have minimum inhibitory value lies in the minimum inhibitory concentration of 1.56%, while the test MEC K1, K2 and K3 which has minimum extinguish value lies in the concentration of 3.13%. The result above shows that the best potential antioxidant activity test lies in the combination of K1 and the best potential antifungal test lies in the combination of K3.

## مستخلص البحث

لوسي اغيتا رحمواتي، 2015، امكانية مجموعة المقتطف المائي من جورجما منجا فال، اجوروس جلاموس و الليوم ستفوم لين على نشاط المضادة الاكسدة والمضادة الفطريات "جنديدا البجانس" بطريقة ان فطرو، البحث الجامعي، قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولي: الدكتور بينة المخترمة الماجستير، والمشرف الثاني: مجاهدين احمد الماجستير.

الكلمات الأساسية: مجموعة من جورجما منجا فال، اجوروس جلاموس و الليوم ستفوم لين على نشاط المضادة الاكسدة والمضادة الفطريات "جنديدا البجانس" ، ماء.

ان النباتات تستخدم أدوية وأعشاب. و احد من المنتجات الأعشاب الذي يستخدم من النبات هو اعشاب "رحم خصبة" من مادوري الذي يستخدم لحلول حصوية المرأة. واما النبات المستخدم للطهو وهو تومو منجا، رمفاغ جريغوو وبصل. واما "جنديدا البجانس" سببا عاما من فولفوغانتيس وهذا النبات يثبط مركبات التريتورفييد.

والأهداف المرجوة في هذا البحث وهي لمعرفة نشاط المضادة الاكسدة والمضادة الفطريات "جنديدا البجانس" من مجموعة النبات جورجما منجا فال، اجوروس جلاموس و الليوم ستفوم لين. واما المدخل في هذا البحث وهو بالنوع الوصفي الكيفي وفي اختبار المضادة الاكسدة باستخدام طريقة DPPH (1،1-ديفونيل - 2 - فجريهدرزيل) واما في اختبار المضادة باستخدام اختبارا تركيزا التثبيط الأدنى وتركيزا قتلا الأدنى.

واما النتائج في هذا البحث تدل على ان في كل مجموعة المائي من جورجما منجا فال، اجوروس جلاموس و الليوم ستفوم لين. واما في اختبار المضادة الاكسدة وهو  $IC_{50}$  في K1 حوالي 202،7 ppm، K2 حوالي 431،9 ppm و K3 حوالي 420،9 ppm. وفي اختبار KHM في K1، K2، و K3 نتيجة تثبيط ادنى التي تقع في تركيز وهو 1،56% واما في اختبار KBM في K1، K2، و K3 نتيجة قتلا ادنى التي تقع في تركيز وهو 3،13%. وانطلاقا الأعلى تدل على ان امكانية من نشاط المضادة الاكسدة أفضل تقع في مجموعة K1 واختبار المضادة الفطرية أفضل في مجموعة K3.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Infertilitas adalah ketidakmampuan seorang wanita untuk hamil atau memiliki anak secara alami (Gaware, 2009). Infertilitas sebagaimana dikutip dari Sarwono (1999), adalah kondisi dimana istri belum pernah hamil walaupun bersenggama dan dihadapkan kepada kemungkinan kehamilan selama dua belas bulan. Infertilitas atau ketidaksuburan juga didefinisikan sebagai suatu keadaan pasangan yang sudah menikah lebih dari satu setengah tahun tanpa kontrasepsi dan tidak mendapatkan anak padahal telah rutin melakukan hubungan seksual tiga kali dalam seminggu (BKKBN, 2006). WHO memperkirakan sekitar 8-10 % pasangan usia subur mengalami masalah kesuburan, kalau dihitung sekitar 50-80 juta orang.

Infertilitas tampaknya menjadi masalah kesehatan multidimensi yang terjadi tidak hanya karena masalah kesehatan yang berkaitan dengan organ-organ reproduksi seperti tuba fallopi, ovarium, dan endometrium, tetapi juga mungkin akibat dari pilihan gaya hidup modern, seperti usia rata-rata yang lebih tinggi ketika menikah, stres, hukum yang tidak kondusif dan efek psikologi lain (Roupa *et al.*, 2009).

Peningkatan pemanasan global, UV dan sinar kosmik, radiasi dari media silicon, ponsel setelah diteliti ternyata juga menghasilkan penurunan infertilitas perempuan. Gangguan genetik dan ketidakseimbangan hormon juga menjadi faktor infertilitas wanita yang dapat diperbaiki dengan obat-obatan, obat-obatan alternatif dan physiotherapis (Gaware *et al.*, 2009).

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. Kekayaan jenis tumbuhan Indonesia berjumlah sekitar 37.000 spesies tumbuhan (Schumacher, 1996 dalam Erdelen et al., 1999). Sebanyak 940 jenis tumbuhan telah terdaftar sebagai penyedia bahan ramuan untuk keperluan pengobatan secara tradisional (Rifa'i, 2000 ; Bermawie *et al.*, 2005).

Penelitian ini akan menjadi awal bahwa mengkonsumsi obat-obatan yang memungkinkan menimbulkan efek samping perlu untuk dihindari terutama oleh kaum perempuan yang cenderung rawan mempunyai permasalahan dalam kesehatannya. Oleh sebab itu, perlu adanya bukti bahwa mengkonsumsi obat-obat tradisional yang bersifat alami, aman untuk dikonsumsi bagi kaum perempuan. Sehingga dengan kandungan obat tradisional mampu meningkatkan kesehatan masyarakat. Sebagaimana tentang tanaman-tanaman yang memiliki manfaat yang banyak telah disebutkan Allah dalam surat Q.S Asyu'araa' ayat 7-9:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾ وَإِنَّ رَبَّكَ لَهُوَ الْعَزِيزُ الرَّحِيمُ ﴿٩﴾

*“dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman. dan Sesungguhnya Tuhanmu benar-benar Dialah yang Maha Perkasa lagi Maha Penyayang.”*

Berdasarkan ayat diatas menjelaskan bahwa Allah ﷻ menciptakan seluruh tumbuhan yang ada di bumi dengan manfaat masing-masing. Manusia sebagai khalifah di bumi di anjurkan untuk memaksimalkan potensi yang terdapat pada seluruh tumbuhan yang ada di bumi untuk diambil manfaatnya salah satunya untuk diolah menjadi obat.

Tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat dan bahan komposisi jamu. Salah satu produk jamu yang memanfaatkan tumbuhan yaitu “jamu subur kandungan” yang sering digunakan untuk solusi infertilitas perempuan. Tumbuhan yang menjadi ramuan utama dalam jamu subur kandungan adalah temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.). Aktivitas antioksidan dan aktivitas antifungi dari tumbuhan penyusun utama ramuan “jamu subur kandungan” tersebut dianggap menjadi faktor penting dalam meningkatkan fertilitas wanita yang telah dipercaya masyarakat selama ratusan tahun dalam pengobatan tradisional.

Temu mangga mengandung senyawa antioksidan, diantaranya kalkon, flavon flavanon yang cenderung larut dalam air (Lajlis, 2007; Suryani, 2009; Phytochemicals, 2012). Ekstrak air temu mangga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga memiliki kemampuan untuk menekan radikal bebas (Pujimulyani dkk., 2004), menekan terbentuknya peroksida selama oksidasi lipid (Tedjo dkk., 2005), dan mampu berperan sebagai antialergi (Tewtrakel dan Subhadhirasakul, 2007).

Jeringau (*Acorus calamus* L.) mengandung minyak atsiri, flavonoid, saponin (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991) polifenol (Afita, 2005), gula, kolin, amilum (Anonim, 2010). Kandungan minyak atsirinya terutama  $\alpha$ -asarone dan  $\beta$ -asarone. Tanaman ini merupakan famili Araceae. Bagian tanaman yang sering dipakai dalam pengobatan adalah akar dan rhizoma (Gholkar, 2013).

Bawang putih (*Allium sativum* Linn.) mengandung lebih dari 100 metabolit sekunder yang secara biologi sangat berguna. Zat kimia yang terdapat pada bawang

putih (*Allium sativum* Linn.) yang memiliki aktivitas antioksidan adalah allicin, senyawa polar fenolik dan steroid (Gebreyohannes, 2013), tannin dan minyak atsiri (Darmadi, dkk., 2013), alkaloid dan saponin (Haryati, 2014), senyawa flavonoid (Imai *et al.*, 1999). Zat kimia yang terdapat pada bawang putih (*Allium sativum* Linn.) yang memiliki aktivitas antimikroba adalah allicin (Barnes, 2007), tannin, alkaloid, minyak atsiri dan saponin (Haryati, 2014).

Berdasarkan ketiga tanaman yang telah dipaparkan diatas diantaranya *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. , menyebutkan bahwa dari masing-masing tanaman tersebut mempunyai senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antifungi. Dengan adanya aktivitas antioksidan maupun antifungi tersebut peneliti mengharapkan senyawa yang terkandung dalam tanaman tersebut dapat mencegah adanya gejala infertilitas pada masyarakat.

Antioksidan berfungsi melindungi tubuh terhadap radikal-radikal bebas sehingga antioksidan penting dalam memelihara kesehatan (Arts, Haenen, Voss dan Bast, 2004). Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan diperlukan untuk memelihara fungsi fisiologis tubuh.

Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut non-polar, seperti eter, kloroform dan n-heksana (Gritter *et al.*, 1991). Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut semi polar

mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987).

Jenis pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah air. Air adalah pelarut yang kuat, melarutkan banyak jenis zat kimia (Azis, 2009). Air dan etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat polar, universal dan mudah didapat. Senyawa polar merupakan senyawa yang larut dalam air. Senyawa metabolit sekunder yang akan diambil pada kombinasi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L. dan *Allium sativum* Linn. bersifat polar sehingga ekstraksi menggunakan pelarut polar (Trifani, 2012).

Antifungi adalah senyawa yang digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh fungi (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Mekanisme antifungi dikelompokkan menjadi empat yaitu gangguan pada membran sel, penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel fungi, penghambatan sintesis asam nukleat dan potensi fungi dan penghambatan mitosis fungi (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Fungi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu fungi *Candida albicans*. Faktor rentan dapat menyebabkan *Candida albicans* dapat berubah menjadi patogen dan menyebabkan penyakit yang disebut kandidiasis. Misalnya kandidiasis mulut (sariawan), kandidiasis vagina (vaginitis), kandidiasis kulit yang sifatnya sistemik (Tjay dan Rahardja, 1978).

Berdasarkan latar belakang masalah yang dipaparkan diatas maka penelitian yang berjudul potensi kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum*

Linn.) terhadap aktivitas antioksidan dan antifungi *Candida albicans* secara in-vitro dilakukan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. memiliki aktivitas antioksidan secara in-vitro?
2. Apakah kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. memiliki aktivitas antifungi secara in-vitro ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari kombinasi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. pada ekstrak air secara in-vitro.
2. Mengetahui aktivitas antifungi *Candida albicans* dari kombinasi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L. dan *Allium sativum* Linn. pada ekstrak air secara in-vitro.

## 1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat aktivitas antioksidan dari kombinasi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. pada ekstrak air secara in-vitro.
2. Terdapat aktivitas antifungi *Candida albicans* dari kombinasi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L. dan *Allium sativum* Linn. pada ekstrak air in-vitro.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dan antifungi *Candida albicans* dari kombinasi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L. dan *Allium sativum* Linn. pada ekstrak air secara in-vitro.

### 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bahan yang digunakan adalah bubuk simplisia rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* Linn.) dari Balai Materia Medika Batu.
  2. Kombinasi pertama (K1) yang digunakan mengacu pada jamu asli “jamu subur kandungan”.
  3. Uji aktivitas antioksidan dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH).
  4. Uji aktivitas antifungi dengan metode Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Metode Konsentrasi Bakterisidal Minimum (KBM).
-

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Manusia dan tumbuh-tumbuhan sangat erat kaitannya dalam kehidupan. Tumbuhan merupakan salah satu dari ciptaan Allah ﷻ yang banyak manfaatnya kepada manusia. Allah menciptakan tanaman di muka bumi untuk dimanfaatkan sebagaimana mestinya dengan sebaik-baiknya. Al-Qur'an menyebutkan bahwa sejumlah buah-buahan yang menurut ilmu pengetahuan modern memiliki khasiat untuk mencegah beberapa penyakit. Bahkan tanaman yang dianggap liar pun juga mempunyai potensi dalam bidang farmakologi (Mahran dan Mubasyir, 2006).

Allah menciptakan semua yang ada di dunia ini tidaklah sia-sia dari yang kecil hingga yang besar. Makhluk hidup (hewan, tumbuhan, dan lain-lain) semuanya dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu berfikir. Allah menjaga semua yang telah ia ciptakan agar tetap hidup. Allah membuktikannya dengan diturunkan oleh-Nya hujan sebagai sumber kehidupan agar manusia dapat mensyukuri nikmat yang telah Allah berikan kepadanya. Allah telah menjelaskan dalam surat al-An'am ayat 99 :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا  
نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ  
وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي  
ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

*“dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”.*

Ayat tersebut mengingatkan kita tentang adanya tanda-tanda kekuasaan Allah ﷻ dalam dunia tumbuh-tumbuhan yang penuh dengan tanda-tanda keagungan dan keperkasaan-Nya. Allah ﷻ telah menciptakan segala macam tanaman sebagai tanda-tanda kekuasaan Allah dan sebagai bahan untuk berfikir agar tercipta kemaslahatan umat. Semua jenis tumbuhan makan dan tumbuh dari air, sinar, karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, fosfor, sulfur, kalium, kalsium, magnesium dan besi. Tanah, unsur makanan dan air yang sama dapat menumbuhkan biji-biji yang sangat kecil menjadi ribuan jenis tumbuhan dan buah-buahan dengan aneka ragam bentuk, warna, bau dan rasa. Kekuasaan Allah dalam tumbuh-tumbuhan terlihat pada modifikasi tumbuh-tumbuhan sesuai dengan berbagai kondisi lingkungan. Semua tumbuhan memiliki susunan dan bentuk luar yang berbeda dengan tumbuhan lain. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda. Misalnya tanaman padi, jagung yang digunakan sebagai sumber makanan pokok dan ada juga tanaman yang biasa dimanfaatkan sebagai tanaman obat seperti penggunaan tanaman temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium*

*sativum* Linn.) sebagai komponen jamu subur kandungan Madura. Penjelasan diatas didukung dengan firman Allah dalam surat Luqman ayat 10 yang berbunyi :

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوَاهَا وَالْقِيَّ فِي الْأَرْضِ رَواسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا  
 مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”.

Berdasarkan ayat tersebut kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Menurut Savitri (2008) tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit dan ini merupakan anugerah Allah ﷻ yang harus dipelajari dan dimanfaatkan, tidak terkecuali tanaman temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) sebagai komponen jamu subur kandungan Madura. Tanaman tersebut dapat dimanfaatkan sebagai jamu atau obat, seperti halnya sabda Nabi Muhammad ﷺ dalam HR. Ibnu Mas’ud berikut (Farooqi, 2005):

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً, عِلْمُهُ مِنْ عِلْمِهِ وَجِهَلُهُ مِنْ جِهَلِهِ

*“Allah tidak menciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan pula obat untuknya. Barang siapa mengerti hal ini, ia mengetahuinya dan barang siapa tidak mengerti hal ini, ia tidak mengetahuinya kecuali kematian.”* (HR. Ibnu Mas’ud).

Hadits diatas menunjukkan bahwa Allah Maha Adil yang menciptakan suatu penyakit beserta obatnya, hal itu akan diketahui manusia dengan adanya ilmu, ilmu pengetahuanlah yang akan menuntun manusia untuk menemukan obat-obatan dari suatu penyakit. Jika manusia tidak mengembangkan ilmu pengetahuan maka tidak akan pernah tau bahwa Allah telah menciptakan berbagai macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Ada berbagai obat yang telah tersedia di alam dan seringkali disebut tanaman (herbal) termasuk tanaman yang dijadikan komponen jamu subur kandungan Madura.

Umat islam diperintahkan dalam Al-Qur’an untuk mempelajari setiap kandungan ayatnya. Kita perlu meningkatkan pemahaman mengenai ayat-ayat al-Qur’an, karena di dalamnya terkandung pengetahuan yang banyak terhadap alam semesta. Sebagaimana firman Allah dalam surat al-Jaatsiyah ayat 13 yaitu :

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ  
يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

*“dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir”.*

Ayat ini menyatakan bahwa di jagad raya ini semua makhluk diciptakan bermacam-macam jenis dan ukurannya yang ditundukkan untuk kepentingan manusia atas kehendak Allah ﷻ Segala nikmat ini merupakan bukti kekuasaan

Allah bagi kaum yang memikirkan ayat-ayat, mengkajinya dan melakukan penelitian ilmiah (Mahran, 2006).

Berdasarkan ayat-ayat tersebut tergambaran betapa besarnya kekuasaan Allah ﷻ jika kita memikirkannya. Semua yang diciptakanNya tidak ada yang sia-sia, baik dilangit maupun dibumi. Ciptaan-ciptaan Allah ﷻ memiliki maksud yang telah dijelaskan oleh al-Qur'an agar manusia dapat mengetahuinya.

## 2.2 Tinjauan Umum Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

### 2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman adalah :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma mangga</i> Val. (Gusmaini <i>et al.</i> , 2004).



Gambar 2.1 Rimpang temu mangga

### 2.2.2 Morfologi

Temu mangga termasuk tanaman bersosok semak dengan tinggi 50-70 cm. Daunnya berbentuk lonjong dengan ujung yang runcing dan panjangnya 30-45 cm.

Bunganya muncul dari ujung batang. Rimpangnya berasa manis, agak sedikit pahit dan beraroma mangga segar atau kweni. Helai daun emu mangga berwarna hijau. Kulit rimpang berwarna putih kekuningan pada kondisi segar dan menjadi kuning pada kondisi kering. Daging rimpang berwarna kuning muda dengan aroma yang harum seperti buah mangga kweni (Sadewo, 2006).

### **2.2.3 Kandungan Kimia**

Temu mangga kaya kandungan kimia seperti tannin, kurkumin, amilum, gul, minyak atsiri, damar, saponin, flavonoid, dan protein toksik yang dapat menghambat perkembangbiakan sel kanker (Hariana, 2006).

Temu mangga mengandung senyawa antioksidan, diantaranya kalkon, flavon flavanon yang cenderung larut dalam air (Lajlis, 2007; Suryani, 2009; Phytochemicals, 2012). Ekstrak air temu mangga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga memiliki kemampuan untuk menekan radikal bebas (Pujimulyani dkk., 2004), menekan terbentuknya peroksida selama oksidasi lipid (Tedjo dkk., 2005), dan mampu berperan sebagai antialergi (Tewtrikel dan Subhadhirasakul, 2007).

### **2.2.4 Khasiat dan Kegunaan**

Tanaman temu mangga memiliki khasiat sebagai penurun panas (antipiretik), penangkal racun (antitoksik), pencahar (laksati), 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).

### 2.3 Tinjauan Umum Jeringau (*Acorus calamus* L.)

#### 2.3.1 Klasifikasi

Klasifikasi *Acorus calamus* L. adalah sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub kelas	: Arecidae
Ordo	: Arales
Famili	: Araceae
Genus	: <i>Acorus</i>
Spesies	: <i>Acorus calamus</i> L.



Gambar 2.2 Tanaman Jeringau

Sinonim : *A. terrestris* Spreng, *A. calamus* L. var. *verus* (Backer dan Van Den Brink, 1986). Di berbagai daerah tumbuhan jeringau memiliki nama yang beragam, diantaranya : Alumongo (Gorontalo), Jeurunger (Aceh), Jerango (Gayo), Jerango (Batak), Jarianggu (Minangkabau), Daringo (Sunda), Dlingo (Jawa Tengah), Jharango (Madura), Jangu (Bali), Kaliraga (Flores), Jeringo (Sasak), Jariangau (Kalimantan), Kareango (Makasar), Kalamunga (Minahasa), Areango (Bugis), Ai wahu (Ambon), Bila (Buru) (Abuanjeli, 2010). Nama simplisia: Calami Rhizoma (rimpang jeringau) (Haryanto, 2010).

#### 2.3.2 Morfologi

Jeringau merupakan herbal menahun dengan tinggi sekitar 75 cm. Tumbuhan ini biasa hidup di tempat lembab, seperti rawa dan air pada semua ketinggian tempat. Batang basah, pendek, membentuk rimpang, dan berwarna putih kotor. Daunnya tunggal, bentuk lanset, ujung runcing, tepi rata, panjang 60 cm,

lebar sekitar 5 cm, dan warna hijau. Bunga majemuk bentuk bonggol, ujung meruncing, panjang 20-25 cm terletak di ketiak daun dan berwarna putih. Perbanyakkan dengan stek batang, rimpang, atau dengan tunas-tunas yang muncul dari buku-buku rimpang. Jeringau mempunyai akar berbentuk serabut (Kardinan, 2004; Muchtaromah, 2014).

Tanaman *Acorus calamus* L. merupakan tumbuhan air, banyak dijumpai tumbuh liar di pinggir sungai, rawa-rawa maupun lahan yang tergenang air sepanjang tahun, baik di Jawa maupun di luar Jawa. Oleh masyarakat, tanaman *Acorus calamus* L. dibudidayakan dengan cara menanamnya di comberan di halaman samping atau rumah. Sepintas tanaman ini mirip dengan pandan, tetapi daunnya lebih kecil dan tumbuh lurus seperti pedang. Warna daun hijau tua dan permukaannya licin. Batang tanaman berada dalam lumpur berupa rimpang dengan akar serabut yang besar-besar (Pakasi dan Christina, 2013).

Dalam pertumbuhannya, rimpang jeringau membentuk cabang ke kanan atau ke kiri. Banyaknya cabang ditentukan oleh kesuburan tanah. Rimpang jeringau dalam keadaan segar kira-kira sebesar jari kelingking sampai sebesar ibu jari, isinya berwarna putih tetapi jika dalam keadaan kering berwarna merah muda. Bentuk rimpang berbentuk agak petak bulat beruas, dengan panjang ruas 1-3 cm, sebelah sisi akar batang agak menajam, sebelah lagi beralur tempat keluar tunas cabang yang baru. Banyak dikelilingi akar serabutnya yang panjang. Kebanyakan dari akar ini tumbuh pada bagian bawah akar batangnya. Bila umur tanaman lebih dari 2 tahun, akarnya dapat mencapai 60-70 cm. Bau akar sangat menyengat (keras) seperti bau rempah atau bumbu lainnya. Jika diletakkan di lidah rasanya tajam,



*calamus* yang tumbuh di Afrika Selatan, antifungi, antioksidan, penghambatan terhadap FeCl<sub>3</sub>, yang menginduksi epileptogenesis pada tikus, antihepatotoksik dan antioksidan, antihiperlipidemia dan antibakteri (Hartati, 2012b). Rimpang jeringau mengandung minyak atsiri, sterol, resin, tannin, lender, glukosa dan kalsium oksalat. Rimpang jeringau secara empiris digunakan untuk obat reumatik, malaria, demam nifas, bengkak, empedu berbatu dan reumatik (Padua, *et al*, 1999; Sa'roni, 2002).

Menurut Pakasi dan Christina (2013), minyak kalamus biasanya digunakan sebagai obat berbagai penyakit. Penyakit yang diobati dengan tanaman calamus ini adalah maag, diare, disentri, asma dan cacangan dan obat demam berdarah (DBD). Pengujian awal infus rimpang tanaman calamus ini menunjukkan potensi penghambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhosa*, yang dapat menyebabkan penyakit tifus. Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang potensi *Acorus calamus* menunjukkan bahwa daunnya mengandung beberapa senyawa aktif antara lain Sakuranin yang memiliki aktivitas anti-hiperlipidemia. Sakuranin terdapat hampir di semua bagian tumbuhan *Acorus calamus* dan ekstrak tumbuhan yang mengandung sakuranin telah digunakan sebagai *herbal medicine* antidiabetes. Juga dilaporkan, kandungan flavonoid retusin ditunjukkan dalam kandungan daun *Acorus calamus* tersebut dan menunjukkan efek psikoaktif, dan jika diformulasikan atau ditambahkan ke dalam teh dapat berkhasiat antiinflamasi, analgesik, laksatif dan furgatif.

## 2.4 Tinjauan Umum Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.)

### 2.4.1 Klasifikasi

Sistematika tumbuhan bawang putih adalah sebagai berikut; (Fritsch dan Friesen, 2002)

Kelas	Liliopsida
Ordo	Amaryllidales
Familia	Allioideae
Suku	Allieae
Genus	Allium
Spesies	<i>Allium sativum</i> Linn.



Gambar 2.4 Umbi Bawang putih (Thampi dkk, 2015)

### 2.4.2 Morfologi

Arisandi dan Andriani (2008) dalam bukunya, bawang putih (*Allium sativum*, Linn.) termasuk genus *afflum* atau di Indonesia lazim disebut bawang putih. Bawang putih termasuk klasifikasi tumbuhan terna berumbi lapis atau suing yang besusun. Bawang putih tumbuh secara berumpun, berdiri tegak setinggi 30-75 cm, mempunyai batang semu yang terbentuk dari pelepah-pelepah daun. Helaian daunnya mirip pita, berbentuk pipih dan memanjang. Akar bawang putih terdiri dari banyak serabut kecil. Setiap umbi terdiri dari sejumlah anak bawang (siung) yang setiap siungnya terbungkus kulit tipis berwarna putih. Bawang putih yang semula

merupakan tumbuhan daerah dataran tinggi, sekarang jenis tertentu dibudidayakan di dataran rendah. Bawang putih berkembang baik pada ketinggian tanah 200-250 meter dpl.

### 2.4.3 Kandungan Kimia

Penelitian modern di Universitas Harvard, Amerika para ilmuwan disana menemukan bahwa tumor yang bersifat kanker tidak dapat tumbuh dalam tubuh, kecuali jika terdapat zat (bahan) yang disebut dengan *cylic guaanisine mono phosphate*. Mereka juga menemukan bahwa resume sebagian tumbuhan mencegah pembentukan zat ini pada tabung percobaan. Jenis-jenis tumbuhan yang dimaksud antara lain; bawang merah, mentimun, mentimun Mesir (qutssa') dan kembang kol (*cauliflowerbrocoly*). Namun, mereka juga menemukan bahwa kandungan bawang putih lebih banyak dalam penghambat terbentuknya zat tersebut. Penelitian juga membuktikan bahwa bangsa yang menggunakan atau mengonsumsi bawang putih setiap hari dinyatakan lebih sedikit menderita kanker usus. Demikian juga, angka kematian yang disebabkan kanker usus relative jauh lebih rendah daripada negara-negara yang tidak menggunakan bawang putih sama sekali. Dengan presentase kematian mencapai 0,5% kasus saja dari setiap 100 ribu jiwa dari 40 kasus per 100 ribu orang (Hasan, 2007).

Bawang putih (*Allium sativum* Linn.) mengandung lebih dari 100 metabolit sekunder yang secara biologi sangat berguna. Zat kimia yang terdapat pada bawang putih (*Allium sativum* Linn.) yang memiliki aktivitas antioksidan adalah scordinin berupa senyawa kompleks thioglosida (Yuwono, 1991), vitamin C dan selenium (mikromineral penting yang berfungsi sebagai antioksidan) (Solihin, 2009).

Senyawa antioksidan yang lain adalah allicin, senyawa polar fenolik dan steroid (Gebreyohannes, 2013), tannin dan minyak atsiri (Darmadi, dkk., 2013), alkaloid dan saponin (Haryati, 2014), senyawa flavonoid yaitu kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glukopiranosida dan isorhamnetin-3-O- $\beta$ -D-glukopiranosida (Kim *et al.*, 2000), SAC dan SAMC (Imai *et al.*, 1999).

Zat kimia yang terdapat pada bawang putih (*Allium sativum* Linn.) yang memiliki aktivitas antimikroba adalah allicin (Barnes, 2007), tannin, alkaloid, minyak atsiri dan saponin (Haryati, 2014), dialil sulfide (Chen, 2009). Senyawa antimikroba yang lain adalah allil metal tiosulfinat, metal allil tiosulfinat, ajoene (Naganawa *et al.*, 1996 dalam Eko, 2003), deoksi alliin, DADS dan DATS (Mabey *et al.*, 1988 dalam Eko, 2003).

Kandungan zat-zat pada umbi Bawang Putih, yaitu (Kartasapoetra, 1992):

- a. Minyak atsiri antara 0,1% sampai 0,5% yang berisi puladialildisulfida, alilpropildisulfida dan senyawa sulfat organik lainnya.
- b. Allin (tidak berbau) yang pada hidrolisa akan menimbulkan bau bawang.

Di antara senyawa yang paling berkhasiat yang dimiliki oleh bawang putih adalah sulfur atau belerang. Bawang putih mengandung setidaknya 33 senyawa sulfur, beberapa enzim dan mineral, kalsium, tembaga, besi, kalium, magnesium, selenium dan seng; vitamin A, B1 dan C, serat dan air. Dia juga mengandung 17 asam amino yang dapat ditemukan dalam bawang putih : lisin, histidin, arginin, asam aspartat, treonin, bati, glutamine, prolin, glisin, alanin, sistein, valin, metionin, isoleusin, leusin, triptofan dan fenilalanin (Gebreyohannes, 2013; Thomson dan Ali, 2003).

Tanaman bawang putih juga terkandung zat aktif utama yaitu allicin yang menghasilkan bau bawang putih (aroma) yang khas dihasilkan ketika senyawa sulfur dan alisin bereaksi dengan enzim alinase (Evennett, 2006). Adapun kandungan sulfur lainnya adalah aliiri, ajoene, allylpropyl disulfide, diallyl trisulfide, sallylcysteine, vinylidithiines, S-allylmercaptocystein, dan lainnya. Selain itu juga terdapat enzim-enzim antara lain :allinase, peroxides, myrosinase dan lain-lain (Kemper, 2000).

Bawang Putih (*Allium sativum*, Linn) memiliki konsentrasi yang lebih tinggi dari senyawa sulfur daripada spesies *Allium* lainnya yang bertanggung jawab baik untuk bau tajam bawang putih dan banyak efek obat. Salah satu yang paling aktif adalah senyawa biologis allicin (diallyl thiosulfinate atau diallyldisulfide). Belerang senyawa yang paling melimpah di bawang putih allin (S-allylcysteine sulfoxide), yang hadir pada 10 dan 30 mg/g dalam bawang putih segar dan kering, masing-masing. Meskipun allicin dianggap sebagai antioksidan utama dan senyawa pemulungan, studi terbaru menunjukkan bahwa senyawa lain mungkin memainkan peran yang lebih, seperti senyawa polar fenolik dan asal steroid, yang menawarkan berbagai sifat farmakologi tanpa bau dan juga panas yang stabil (Gebreyohannes, 2013).

#### **2.4.4 Khasiat dan Kegunaan**

Bawang putih (*Allium sativum* Linn.) dan kunyit (*Curcuma domestica* Val.) merupakan contoh obat tradisional yang banyak digunakan masyarakat Indonesia karena memiliki berbagai macam khasiat. Bawang putih memiliki khasiat sebagai

antibakteri, antifungi, antelmintik, antihipertensi, antiagregasi platelet dan antioksidan yang memiliki efek hipoglikemik (Ebadi, 2006 ) (WHO, 1991).

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain. Metode ekstraksi yang tepat ditemukan oleh tekstur kandungan air bahan-bahan yang akan diekstrak dan senyawa-senyawa yang akan diisolasi (Harborne, 1996).

Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan komponen-komponen bioaktif suatu bahan (Harborne, 1987). Ada beberapa metode umum ekstraksi yang sering dilakukan, yaitu ekstraksi dengan pelarut (maserasi), destilasi, supercritical fluid extraction (SFE), pengepresan mekanik dan sublimasi (Gritter et al., 1991), serta secara enzimatik (Taherzadeh and Karimi, 2007; Hamed et al., 2013). Destilasi dan ekstraksi dengan pelarut merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan (Gritter et al., 1991).

Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut non-polar, seperti eter, kloroform dan n-heksana (Gritter et al., 1991). Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi.

Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkannya, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan mudah terbakar (Harborne, 1987). Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987).

Secara umum, ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat dan ekstraksi tunggal. Ekstraksi bertingkat dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut berbeda secara berurutan, dimulai dengan pelarut non polar lalu dengan pelarut yang kepolarannya menengah kemudian dengan pelarut polar, dengan demikian akan diperoleh ekstrak kasar yang mengandung berturut-turut senyawa non polar, semi polar, dan polar. Metode ini berguna bila kita bekerja dengan skala gram. Sedangkan ekstraksi tunggal dilakukan dengan cara merendam sampel dengan satu jenis pelarut tertentu. Bila menggunakan beberapa pelarut yang berbeda maka pada setiap pelarut dicampurkan dengan sampel yang belum pernah dilarutkan dengan pelarut lain sebelumnya (Harborne, 1987).

Ekstraksi serbuk kering jaringan tumbuhan dapat dilakukan secara maserasi, refluks, atau sokletasi dengan menggunakan pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda-beda. Maserasi adalah proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin diskontinyu. Keuntungannya yakni lebih praktis, pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan tidak memerlukan

pemanasan, tetapi waktu yang dibutuhkan relative lama (Kristanti, 2008). Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia (Depkes RI, 2008).

Voight (1994), proses penarikan bahan (ekstraksi) terjadi dengan mengalirnya pelarut ke dalam sel bahan yang menyebabkan protoplasma membengkak, dan kandungan sel dalam bahan akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Daya melarutkan yang tinggi berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran bahan yang diekstraksi. Karotenoid bersifat non polar dan hanya larut dalam pelarut nonpolar (Mappiratu, 1990). Heksana merupakan pelarut nonpolar yang efektif sebagai pelarut lemak dan minyak sehingga cocok untuk melarutkan karotenoid.

Proses pemisahan senyawa dalam simplisia, menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan pelarut berdasarkan kaidah '*like dissolved like*' artinya suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar. Ekstraksi dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode, tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi (Noerono dalam Pratiwi, 2009). Maserasi adalah perendaman bahan alam yang dikeringkan (simplisia) dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Rusdi dalam Pratiwi, 2009).

## 2.6 Pelarut Air

Jenis pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah air. Air adalah pelarut yang kuat, melarutkan banyak jenis zat kimia. Zat-zat yang bercampur dan larut dengan baik dalam air (misalnya garam-garam) disebut sebagai zat-zat hidrofilik dan zat-zat yang tidak mudah tercampur dengan air (misalnya lemak dan minyak) disebut dengan zat-zat hidrofobik. Kelarutan suatu zat dalam air ditentukan oleh dapat tidaknya zat tersebut menandingi kekuatan gaya tarik-menarik listrik (gaya intermolekul dipol-dipol) antara molekul-molekul air. Jika suatu zat tidak mampu menandingi gaya Tarik-menarik antar molekul air, molekul-molekul zat tersebut tidak larut dan akan mengendap dalam air (Azis, 2009).

Aquades berasal dari istilah latin *aquadestilata* yang berarti air suling. Air suling merupakan air yang diperoleh dari pengembunan uap air akibat penguapan atau pendidihan air (HAM, 2006).

Air adalah senyawa kimia dengan rumus kimia  $H_2O$ , artinya satu molekul air tersusun atas dua atom hydrogen yang terikat secara kovalen pada satu atom oksigen. Air mempunyai sifat tidak berwarna, tidak berasa dan tidak berbau pada kondisi standar, yaitu pada tekanan 100 kPa (1 bar) dan suhu 273,15 K (0 °C). air dikenal sebagai pelarut universal karena mampu melarutkan banyak zat kimia lainnya, seperti garam, gula, asam, beberapa jenis gas dan senyawa organik (Trifani, 2012).

Menurut Das (2014) berdasarkan skrining fitokimia ekstrak air menunjukkan bahwa pelarut air dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin, phenols, flavonoid. Senyawa yang dilarutkan oleh pelarut air

dapat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (26 mm), *Staphylococcus aureus* (20 mm), *Staphylococcus epidermidis* (28 mm), *Staphylococcus albus* (35 mm), *Salmonella typhi* (26 mm), *Streptococcus faecalis* (12 mm) dan *Micrococcus roseus* (30 mm) (Khan dan Omoloso, 1998).

Sebuah molekul air terdiri dari sebuah atom oksigen yang berikatan kovalen dengan dua atom hidrogen. Hidrogen dan oksigen mempunyai daya padu yang sangat besar antara keduanya. Kemampuan molekul air membentuk ikatan hidrogen menyebabkan air mempunyai sifat-sifat unik. Ikatan hidrogen air pada tekanan atmosfer bersifat mengalir (*flow*) pada suhu 0-100°C, dan densitasnya 1 g/ml (Winarno, 2002).

## **2.7 Maserasi**

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana (Ansel, 1989 dalam Baraja, 2008). Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Pada penyaringan maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel.

## 2.8 Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) merupakan salah satu bentuk senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan (Winarsi, 2007). Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Radikal bebas ini akan merebut elektron dari molekul lain yang ada di sekitarnya untuk menstabilkan diri. Radikal bebas erat kaitannya dengan kerusakan sel, kerusakan jaringan dan proses penuaan (Fessenden dan Fessenden, 1986). Radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal (Winarsi, 2007).

Radikal bebas akan menyerang biomakromolekul penting dalam tubuh seperti komponen penyusun sel, yaitu protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein serta DNA termasuk polisakaridanya. Asam lemak tak jenuh adalah yang paling rentan. Radikal bebas akan merusak lemak tak jenuh ganda pada membrane sel sehingga dinding sel menjadi rapuh, merusak pembuluh darah dan menimbulkan aterosklerosis. Radikal bebas juga merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem informasi genetika dan membentuk sel kanker. Jaringan lipid juga akan dirusak oleh senyawa radikal bebas sehingga terbentuk peroksida dan menimbulkan penyakit degenerative (Winarsi, 2007).

Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya dapat menyebabkan reaksi berantai dan kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Hal ini akan menimbulkan kerusakan sel atau jaringan, penyakit degenerative hingga kanker. Berbagai gangguan akibat kerja radikal bebas adalah gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul yang tidak teridentifikasi oleh sistem imun bahkan

mutasi. Semua gangguan tersebut memicu timbulnya berbagai macam penyakit (Sadikin, 2001).

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan reaksi radikal bebas melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi merupakan awal pembentukan radikal bebas, tahap propagasi merupakan pemanjangan rantai dan tahap terminasi merupakan bereaksinys senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal sehingga potensi propagasinya rendah. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan cara (Winarsi, 2007) :

- Mencegah (*prevention*) atau menghambat (*inhibition*) pembentukan radikal bebas baru
- Menginaktivasi (*inactivation*) atau menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*) dan memotong propagasi (pemutusan rantai)
- Memperbaiki (*repaire*) kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas

## **2.9 Antioksidan**

### **2.9.1 Definisi dan Fungsi**

Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meradam dampak negative dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007).

Secara kimia, proses pelepasan elektron dari suatu senyawa disebut oksidasi. Sementara, proses penangkapan elektron disebut reduksi. Senyawa yang dapat menarik atau menerima elektron disebut oksidan atau oksidator, sedangkan

senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan elektron disebut reduktan atau reduktor (Winarsi, 2007).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, akibatnya kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007).

Menurut Winarsi (2007), status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang berdasarkan reaksi oksidasi dalam tubuh. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksidan reaktif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihannya akan menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif. Namun demikian, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan 3 cara berikut :

1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
2. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai).
3. Memperbaiki (*repair*) kerusakan oleh radikal.

Tidak selamanya senyawa oksidan reaktif yang terdapat didalam tubuh itu merugikan. Pada kondisi-kondisi tertentu keberadaanya sangat dibutuhkan, misalnya, untuk membunuh bakteri yang masuk ke dalam tubuh. Oleh sebab itu,

keberadaannya harus dikendalikan oleh sistem antioksidan dalam tubuh (Winarsi, 2007).

Antioksidan merupakan zat kimia yang secara bertahap akan teroksidasi dengan adanya efek seperti cahaya, panas, logam peroksida atau secara langsung bereaksi dengan oksigen. Ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan alam dan antioksidan sintesis. Sebagai contoh  $\alpha$  tokoferol (vitamin E) merupakan antioksidan alam yang terdapat dalam lemak dan minyak yang diperoleh dari biji tanaman (Zapsalis, 1985).

Antioksidan berfungsi melindungi tubuh terhadap radikal-radikal bebas sehingga antioksidan yang penting dalam memelihara kesehatan (Arts, Haenen, Voss dan Bast, 2004). Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan diperlukan untuk memelihara fungsi fisiologis tubuh. Oleh karena itu, pemberian sumber antioksidan dari luar perlu dilakukan untuk membantu mengatasi keadaan stress oksidatif ini (Lobo, Patil, Phatak dan Chandra, 2010). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif atau spesies nitrogen aktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti kanker, kardiovaskuler dan penuaan (Halliwell dan Gutteridge, 1999).

### **2.9.2 Penggolongan Antioksidan (Pokorni, 2001)**

Tubuh memiliki sistem pertahanan internal terhadap radikal bebas. Sistem pertahanan tersebut dikelompokkan menjadi 3 golongan. Pertama adalah antioksidan primer (antioksidan endogen/antioksidan enzimatis). Contohnya *superoxide dismutase* (SOD), katalase dan *glutathion peroxidase*. Enzim-enzim ini

mampu menekan atau menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk lebih stabil. Reaksi ini disebut sebagai *chain-breaking-antioxidant*. Golongan kedua adalah antioksidan sekunder (antioksidan eksogen/antioksidan non enzimatis). Contohnya adalah vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, isoflavon, asam urat, bilirubin dan albumin. Senyawa-senyawa ini dikenal sebagai penangkap radikal bebas (*scavenger free radical*). Golongan ketiga adalah antioksidan tersier. Misalnya enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang dirusak oleh radikal bebas.

Mekanisme kerja antioksidan dibagi dalam beberapa jenis diantaranya antioksidan primer, yaitu senyawa yang mengakhiri rantai radikal bebas dalam jenis reaksi oksidasi. Beberapa senyawa antioksidan jika dicampur dapat mempengaruhi kinerjanya dengan efek sinergi. Sinergi yaitu senyawa yang mempunyai sedikit sifat antioksidan tetapi dapat memperbesar efek dari antioksidan primer. Asam askorbat dan asam sitrat memberi efek sinergi terhadap antioksidan yang lain dan sering dipakai sebagai antioksidan dalam pangan (Ketaren, 1986).

### **2.9.3 Sumber Antioksidan**

Antioksidan sangat beragam jenisnya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Antioksidan sintetis yang umumnya digunakan dalam produk pangan antara lain PG (propil galat), TBHQ (*tert-butylhydroxyquinone*), BHA (*butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hydroxytoluene*).

Antioksidan alami banyak terdapat dalam tanaman pada seluruh bagian dari tanaman seperti akar, daun, bunga, biji, batang dan sebagainya. Menurut Pratt dan Hunson (1990), senyawa-senyawa yang umumnya terkandung dalam antioksidan alami adalah fenol, polifenol, dan yang paling umum adalah flavonoid (flavonol, isoflavon, flavon, katekin, flavonon), turunan asam sinamat, tokoferol, dan asam organik polifungi. Saat ini tokoferol sudah diproduksi secara sintetik untuk tujuan komersial.

#### **2.9.4 Metode DPPH**

Metode pengujian aktivitas antioksidan dikelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Methods* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *Electron Transfer Methods* (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*. Golongan ketiga adalah metode lain seperti *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescence* (Badarinath *et al.*, 2010).

Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{max}$ ) 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi (Reynertson, 2007). Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan

rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan suatu elektron tersebut yang beresonansi. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk skrening aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa (Koleva *et al.*, 2001 *cit* Marxen *et al.*, 2007), selain itu metode ini terbukti akurat, reliable dan praktis (Prakash *et al.*, 2001).

Yen dan Chen (1995) Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang merupakan radikal bebas, yang jika direaksikan dengan ekstrak tanaman yang mengandung antioksidan maka akan terjadi reaksi penangkapan hydrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH (ungu) yang kemudian berubah 1,1-difenil 2- pikrilhidrazin (kuning).

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniar *et al.*, 2009). Pada metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath *et al.*, 2010).

Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-*

*diphenyl-2-picrylhydrazin* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004).

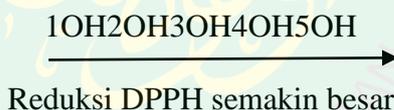
Dalam uji DPPH, kemampuan scavenging terhadap DPPH dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi pada 515-517 nm. Penurunan absorbansi terjadi karena penambahan elektron dari senyawa antioksidan pada elektron yang tidak berpasangan pada gugus nitrogen dalam struktur senyawa DPPH. Larutan DPPH berwarna ungu. Intensitas warna ungu akan menurun ketika radikal DPPH tersebut berikatan dengan hydrogen. Semakin kuat aktivitas antioksidan sampel maka akan semakin besar penurunan intensitas warna ungunya (Osawa, 1981).

Pada metode DPPH free radical scavenging activity, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) digunakan sebagai model radikal bebas (Hatano *et al*, 1998). Jika senyawa ini masuk dalam tubuh manusia dan tidak terkendalikan dapat menyebabkan kerusakan fungsi sel. Dalam uji ini methanol digunakan sebagai pelarut, sedangkan inkubasi pada suhu 37°C dimaksudkan untuk mengoptimalkan aktivitas DPPH.

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH dalam methanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitor Concentration*). IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai

IC<sub>50</sub> berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 ppm (IC<sub>50</sub> < 50 ppm), kuat (50 ppm < IC<sub>50</sub> < 100 ppm), sedang (100 ppm < IC<sub>50</sub> < 150 ppm), lemah (150 ppm < IC<sub>50</sub> < 200 ppm), dan sangat lemah (IC<sub>50</sub> > 200 ppm).

Reduksi DPPH menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil baik di dalam ekstrak etanol maupun di dalam fraksi hasil pemisahan. Oleh karena itu terjadi pengurangan jumlah hydrogen yang dapat didonorkan dari fraksi hasil pemisahan pada DPPH. Pada senyawa standar quersetin peredaman warna terjadi lebih efektif jika dibanding ekstrak etanol maupun fraksi hasil pemisahan. Hal ini dikarenakan dalam molekul quersetin mempunyai lima gugus hidroksil. Jumlah ini cukup banyak pada setiap molekulnya untuk mereduksi DPPH. Berikut ini orientasi besarnya reduksi DPPH oleh gugus hidroksil (Rahayu dkk, 2010):



**Gambar. 2.5** Orientasi besarnya reduksi DPPH oleh gugus hidroksil

Mardawati (2008) menyebutkan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis menggunakan DPPH pada fraksi methanol memberikan nilai EC<sub>50</sub> sebesar 8,00 mg/L. IC<sub>50</sub> adalah suatu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC<sub>50</sub> bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC<sub>50</sub> bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika IC<sub>50</sub> adalah 150-200 ppm. Sistem pertahanan antioksidan

secara fisiologis dan farmakologis bekerja dalam tiga kategori yaitu pencegahan, pencegahan dan pemulihan. Sebagian besar antioksidan bekerja pada tingkat pencegahan, dengan menyingkirkan prooksidan, terutama dari bagian sel-sel sensitif.

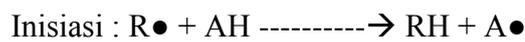
Mekanisme reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan adalah  $DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH-H + A^{\bullet}$ . Reaksi yang cepat dari radikal DPPH terjadi dengan beberapa fenol, misalnya  $\alpha$ -tokoferol, tetapi reaksi sekunder lambat menyebabkan penurunan absorbansi yang progresif, sehingga keadaan *steady state* tidak akan dicapai untuk beberapa jam (Pokorny, 2001).

### 2.9.5 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hydrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ( $R^{\bullet}$ ,  $ROO^{\bullet}$ ) atau mengubahnya dalam bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan ( $A^{\bullet}$ ) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1993).

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun

propagasi. Radikal-radikal antioksidan ( $A\bullet$ ) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energy untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1993).



Radikal lipid



**Gambar 2.6** Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida (Gordon, 1993).

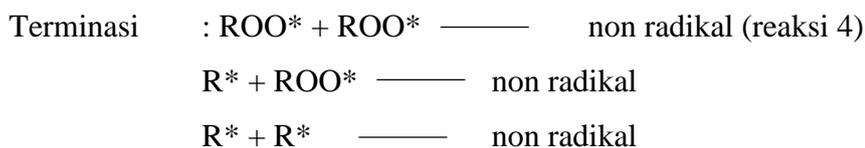
Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Untuk mempermudah pemahaman tentang mekanisme kerja antioksidan perlu dijelaskan lebih dahulu tentang mekanisme oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hydrogen (reaksi 1). Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3) (Nugroho, 2009).



**Gambar 2.7** Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru

Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavor makanan berlemak. Tanpa

adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4) (Nugroho, 2009).



**Gambar 2.8** Reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal

## 2.10 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV (Ultra-Violet) merupakan spektroskopi yang menggunakan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang daerah UV-Vis. Radiasi elektromagnetik, yang mana sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan salah satunya, dapat dianggap sebagai energy yang merambat dalam bentuk gelombang. Panjang gelombang merupakan jarak linier dari suatu titik pada satu gelombang yang berdekatan (Rohman, 2009).

Penerapan spektrofotometri UV-Vis pada senyawa organik didasarkan pada transisi  $n-\pi^*$  ataupun  $\pi-\pi^*$ . Transisi ini terjadi dalam daerah spectrum sekitar 200 ke 700 nm yang digunakan dalam eksperimen dan karenanya memerlukan gugus kromofor dalam molekul itu (Day dan Underwood, 1999). Kromofor merupakan gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah-daerah UV dan Vis, pada senyawa organik dikenal pula gugus aoksokrom yaitu gugus jenuh yang terikat pada kromofor. Terikatnya gugus aoksokrom pada kromofor dapat mengubah panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum (Sastrohamidjojo, 2007).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spectrum Ultra Violet dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra Ultra Violet terlihat dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat dengan transisi diantara tingkatan tenaga elektronik. Pemisahan tenaga yang paling tinggi diperoleh bila elektron-elektron dalam ikatan  $\sigma$  tereksitasi yang menimbulkan serapan dalam daerah Ultra Violet dari 120 sampai 200 nm (Sastohamidjojo, 2007).

Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spectrum tampak yang *continue*, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blangko dan suatu alat untuk mengatur perbedaan absorbs sampel dan blangko (Khopkar, 2005).

Isolat F<sub>2.6</sub> dari ekstrak *n*-butanol positif mengandung senyawa golongan flavonoid. Dari spectrum Ultra Violet-Visibel, dapat disuga bahwa senyawa flavonoid tersebut merupakan golongan flavanon atau dihidroflavanol, yang dapat dilihat dari rentang panjang gelombangnya yaitu antara 275-295 nm (pita II) dan 350-400 nm berupa bahu (pita I). Penambahan pereaksi geser menunjukkan tidak adanya gugus hidroksi pada atom C-3 dan C-5, adanya gugus hidroksi pada atom C-7, dan tidak adanya gugus orto dihidroksi pada cincin A, B maupun C, serta terdapatnya gugus O-glikosida pada atom C-7 (Astiti dan Setiawan, 2010).

Menurut literatur spektrum khas flavonoid terdiri dari dua pita yaitu 240-295 nm (pita II) dan 300-350 nm (pita I) (Markham, 1998; Mabry, 1970). Identifikasii dengan UV menunjukkan bahwa isolat ekstrak etil asetat rimpang lengkuas merah termasuk golongan senyawa flavonoid karena spektrumnya berada pada rentangan panjang gelombang tersebut. Rentangan pita serapan senyawa hasil isolasi dalam pelarut methanol berada pada panjang gelombang 235-270 nm (pita

II) dan 300-345 nm (bahu/ pita I). Pita serapan tersebut berada daerah serapan senyawa flavanon. Flavanon mempunyai pita serapan pada rentangan panjang gelombang 270-295 nm (pita II) dan 310-350 nm (pita I/ bahu) (Markham, 1988; Mabry, 1970). Sehingga diperkirakan senyawa hasil isolasi termasuk senyawa flavonoid jenis flavanon (Nurhayati, dkk, 2006).

Rita (2010) menyebutkan bahwa ekstrak etanol dan *n*-heksana rimpang temu putih yang mana dari uji fitokimia ekstrak positif mengandung senyawa triterpenoid. Hasil analisis isolat dalam etanol dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan dua puncak serapan. Munculnya serapan maksimum pada panjang gelombang 242 nm diduga diakibatkan oleh adanya transisi elektron dari  $n-\sigma^*$  yang disebabkan oleh adanya suatu kromofor C=O. hal ini didukung dari hasil analisis spektrofotometri inframerah yang menunjukkan isolat mempunyai gugus fungsi C=O pada daerah bilangan gelombang  $1728,22\text{ cm}^{-1}$ . Serapan landau pada panjang gelombang 280 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron dari  $n-\pi^*$  yang disebabkan oleh adanya ikatan rangkap C=O. Analisis isolat aktif antimakan dari ekstrak *n*-heksana batang tumbuhan brotowali dengan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan dua serapan pada panjang gelombang 288,6 nm dan 310,6 nm. Serapan pada panjang gelombang 288,6 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron dari  $\pi-\pi^*$ . Hal ini didukung oleh adanya serapan dari gugus fungsi C=O pada spectrum IR. Serapan pada panjang gelombang 310,6 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron  $n-\pi^*$  karena pada spectrum IR juga menunjukkan serapan C=C alifatik (Sukadana, 2004).

## **2.11 Antifungi**

### **2.11.1 Definisi**

Antifungi adalah senyawa yang digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh fungi (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Antifungi mempunyai dua pengertian yaitu fungisidal dan fungistatik. Fungisidal didefinisikan sebagai suatu senyawa yang dapat membunuh fungi sedangkan fungistatik dapat menghambat pertumbuhan tanpa mematikannya (Marsh, 1977).

### **2.11.2 Mekanisme Kerja**

Mekanisme antifungi dikelompokkan menjadi empat yaitu gangguan pada membran sel, penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel fungi, penghambatan sintesis asam nukleat dan potensi fungi dan penghambatan mitosis fungi (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Mekanisme kerja antibiotik adalah sebagai berikut (Jawetz, 2005):

#### **a. Menghambat sintesa dinding sel**

Lapisan paling luar bakteri adalah dinding sel yang mempunyai fungsi memberikan bentuk sel dan melindungi membran protoplasma yang berada di bawah dinding sel terhadap trauma. Trauma pada dinding sel menyebabkan lisisnya sel bakteri, sehingga zat-zat yang mampu merusak dinding sel bakteri akan menyebabkan bakteri mati atau terhambat pertumbuhannya.

#### **b. Menghambat fungsi membran sel**

Membran sitoplasma bakteri berfungsi sebagai membran yang selektif permeabel dan sebagai pengontrol komposisi internal sel, sehingga bila membran sel rusak akan terjadi kematian sel.

c. Menghambat sintesa protein

Sintesis protein terjadi melalui transkripsi DNA menjadi mRNA dan mRNA ditranslasi menjadi protein. Antibiotik yang mampu menghambat transkripsi dan translasi maka akan menghambat sintesa protein didalam ribosom.

d. Menghambat sintesa asam nukleat

Beberapa antibiotik bisa merusak struktur dan fungsi DNA, struktur molekul DNA berperan dalam transkripsi dan translasi sehingga zat yang mengganggu struktur DNA akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan bakteri.

### **2.11.3 Pengukuran Aktivitas Antifungi**

Uji potensi antifungi adalah menguji suatu zat yang diduga mempunyai daya antifungi dengan memanfaatkan fungi sebagai indikator pengujian. Kegunaan uji antifungi adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

### **2.11.4 Uji Antimikroba**

Uji senyawa antibakteri adalah untuk mengetahui apakah suatu senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Pratiwi, 2008).

## 1. Metode Difusi

Prinsip metode difusi adalah pengukuran potensi antibakteri berdasarkan pengamatan diameter daerah hambatan bakteri karena berdifusinya obat dari titik awal pemberian ke daerah difusi. Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar, menggunakan cakram kertas saring yang berisi sejumlah tertentu obat yang ditempatkan pada permukaan medianya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Jawetz, 1996).

Penuangan media metode difusi ke dalam cawan petri ada dua cara, yaitu metode *pour plate* dan *spread plate*. Pada metode *pour plate* sebanyak 1 mL atau 0,1 mL larutan biakan aktif dimasukkan dalam cawan petri kosong kemudian ditambahkan media agar dalam keadaan hangat dan dihomogenkan. Dibiarkan memadat dan koloni bakteri akan berada di atas maupun di bawah media padat. Pada metode *spread plate*, sebanyak 1 mL atau 0,1 mL larutan biakan aktif dimasukkan dalam cawan petri berisi media padat kemudian diratakan dengan L glass, koloni bakteri akan berada di atas permukaan media padat saja (Tortora, 2001). Zona bening diukur menggunakan penggaris dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona hambat) dengan diameter cakram (Volk dan Wheeler, 1993).

## 2. Metode Dilusi

Prinsip metode dilusi adalah larutan uji diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi larutan uji ditambahkan suspensi bakteri dalam media. Pada dilusi padat, tiap konsentrasi larutan uji dicampurkan ke dalam media agar. Setelah padat kemudian ditanami bakteri (Hugo & Russel, 1987).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Disc diffusion test atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu  $10^5$ - $10^8$ CFU/mL (Hermawan dkk., 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing

konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau Minimal Inhibitory Concentration (MIC). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau Minimal Bactericidal Concentration (MBC) (Pratiwi, 2008).

Prosedur uji dilusi digunakan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), yaitu konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri. Pada dilusi, masing-masing konsentrasi larutan uji ditambahkan suspensi bakteri dalam media cair kemudian diinkubasi dan diamati pertumbuhan bakteri uji yang tampak berdasarkan kekeruhan media. Media yang berisi konsentrasi senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri terlihat memiliki kekeruhan yang paling tipis dibandingkan dengan konsentrasi senyawa antibakteri yang tidak menghambat pertumbuhan. Konsentrasi senyawa antibakteri yang dapat membunuh bakteri akan memberikan hasil berupa media yang tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri pada saat di streak

ke media lain. Potensi antibakteri dapat ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah yang dapat menghambat atau membunuh bakteri (McKane dan Kandel, 1996).

### **2.11.5 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri**

Ada empat fase pertumbuhan bakteri yaitu fase lag, log, stasioner, dan kematian. Berikut uraian mengenai fase pertumbuhan bakteri (Tortora, 2001).

#### **1. Fase Lag**

Jumlah sel sangat sedikit atau tidak ada karena sel tidak segera mereproduksi diri dalam media baru. Pada tahap ini sel tidak aktif karena populasi mikroba sedang mengalami aktivitas metabolisme tertentu yang meliputi DNA dan sintesis enzim jadi tidak ada perubahan jumlah tetapi perubahan massa.

#### **2. Fase Log (eksponensial)**

Sel mulai membelah dan masuk ke dalam periode pertumbuhan reproduksi sel paling aktif dan waktu generasinya konstan. Partikel organisme pada fase ini sensitif terhadap kondisi yang tidak menguntungkan seperti radiasi dan senyawa antimikroba.

#### **3. Fase Stasioner**

Satu bakteri membagi setiap 20 menit hanya selama 25,5 jam. Secara teori menghasilkan populasi yang ekuivalen dimana beratnya 80 ton, akan tetapi kenyataannya tidak demikian hingga akhirnya laju pertumbuhan lambat sehingga jumlah bakteri yang hidup dan mati seimbang dan populasinya stabil. Penyebab terhentinya pertumbuhan

bakteri pada fase ini adalah kekurangan nutrisi, akumulasi produk limbah, dan lain-lain.

#### 4. Fase Kematian

Koloni memasuki fase kematian atau penurunan fase logaritmik, ketika jumlah kematian melebihi jumlah sel-sel baru terbentuk.

### 2.12 Jamur *Candida albicans*

#### 2.12.1 Morfologi

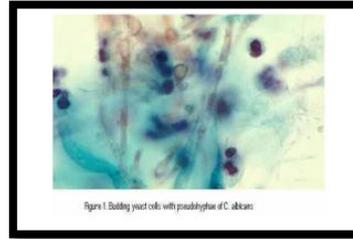
Allah ﷻ telah menciptakan segala sesuatu dipermukaan bumi beranekaragam jenis dengan sifatnya masing-masing, baik yang dapat dilihat secara kasat mata atau tidak. Sesuai dengan firman Allah dalam QS.

Al-Furqon (25):2 :

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ  
وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya : “Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya) dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya”.

Menurut Shihab (2002) dalam tafsir Al-Mishbah bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu yang ada di alam semesta ini dan Allah juga menciptakan variasi atas ciptaan-Nya. sehingga tercipta makhluk dengan karakter dan ukuran yang berbeda. Seperti penciptaan jamur *Candida albicans* dengan karakteristik serta ukuran yang berbeda dengan bakteri lainnya.



**Gambar 2.9** Jamur *Candida albicans* (Saravana dkk, 2010)

Adapun klasifikasi jamur *Candida albicans* (Pfaller et al., 1995; Wenzel, 1995; Dean *et al.*, 1996; Hajjeh *et al.*, 2004) sebagai berikut:

Kingdom : Fungi  
 Phylum : Ascomycota  
 Class : Saccharomycetes  
 Order : Saccharomycetales  
 Family : Saccharomycetaceae  
 Genus : *Candida*  
 Spesies : *Candida albicans*

Sel jamur *Candida* berbentuk bulat, lonjong, bulat lonjong. Koloninya pada medium padat sedikit menimbul dari permukaan medium, dengan permukaan halus, licin atau berlipat-lipat, berwarna putih kekuningan dan berbau ragi. Besar koloni bergantung pada umur. Pada tepi koloni dapat dilihat hifa semu sebagai benang-benang halus yang masuk ke dalam medium. Pada medium cair jamur biasanya tumbuh pada dasar tabung (Suprihatin, 1982 dalam Istiya, 2009).

*Candida albicans* dapat meragikan glukosa dan maltosa menghasilkan asam dan gas. Selain itu, *Candida albicans* menghasilkan asam dari sukrosa dan tidak bereaksi dengan laktosa (Jawetz *et al.*, 1986). *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 (Ali, 2008).

### 2.12.2 Patogenitas

*Candida albicans* penyebab yang paling umum dari vulvovaginitis. Hilangnya pH asam merupakan predisposisi timbulnya vulvovaginitis candida. Dalam keadaan normal pH yang asam dipertahankan oleh bakteri vagina. Diabetes, kehamilan, progesteron, atau pengobatan antibiotik merupakan predisposisi penyakit ini. Biasanya sering terdapat pada penderita Diabetes Melitus karena kadar gula darah dan urin yang tinggi dan pada wanita hamil karena penimbunan glikogen dalam epitelvagina (Ali, 2008).

Vulvovaginitis menyerupai sariawan tetapi menimbulkan iritasi, gatal yang hebat dan pengeluaran sekret. Pada yang berat terdapat pula rasa panas, nyeri sesudah miksi dan dispareunia. Pada pemeriksaan yang ringan tampak hiperemia di daerah labia minora, introitus vagina dan vagina terutama 1/3 bagian bawah. Sering pula terdapat kelainan yang khas yaitu bercak-bercak putih kekuningan. Pada kelainan yang berat juga terdapat edema pada labia minora dan ulkus-ulkus yang dangkal pada labia minora dan sekitar introitus vagina. Fluor albus pada kandidosis vagina berwarna kekuningan. Tanda yang khas ialah disertai gumpalan-gumpalan sebagai kepala susu berwarna putih kekuningan. Gumpalan itu berasal dari massa yang terlepas dari dinding vulvu (Ali, 2008).

*Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. Pada beberapa strain, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora

yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar 8-12  $\mu$ . Morfologi koloni *Candida albicans* pada medium padat agar Sabouraud Dekstrosa, umumnya berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Umur biakan mempengaruhi besar kecil koloni. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Dalam medium cair seperti glucose yeast, extract pepton, *Candida albicans* tumbuh di dasar tabung (Tjampakasari, 2006).

Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik. Dinding sel berperan pula dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Fungsi utama dinding sel tersebut adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. *Candida albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm. Komposisi primer terdiri dari glukan, manan dan khitin. Manan dan protein berjumlah sekitar 15,2-30 % dari berat kering dinding sel, -1,3-D-glukan dan 1,6-D-glukan sekitar 47-60 %, khitin sekitar 0,6-9 %, protein 6-25 % dan lipid 1-7%. Dalam bentuk ragi, kecambah dan miselium, komponen-komponen ini menunjukkan proporsi yang serupa tetapi bentuk miselium memiliki khitin tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan sel ragi. Dinding sel *C. albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda (Tjampakasari, 2006).

*Candida albicans* dapat dibedakan dari spesies lain berdasarkan kemampuannya melakukan proses fermentasi dan asimilasi. Pada kedua proses ini dibutuhkan karbohidrat sebagai sumber karbon. Pada proses fermentasi,

jamur ini menunjukkan hasil terbentuknya gas dan asam pada glukosa dan maltosa, terbentuknya asam pada sukrosa dan tidak terbentuknya asam dan gas pada laktosa. Pada proses asimilasi menunjukkan adanya pertumbuhan pada glukosa, maltosa dan sukrosa namun tidak menunjukkan pertumbuhan pada laktosa. Seperti halnya pada eukariot lain, nukleus *Candida albicans* merupakan organel paling menonjol dalam sel. Organ ini dipisahkan dari sitoplasma oleh membran yang terdiri dari 2 lapisan. Semua DNA kromosom disimpan dalam nukleus, terkemas dalam serat-serat kromatin. Isi nukleus berhubungan dengan sitosol melalui pori-pori nucleus. Vakuola berperan dalam sistem pencernaan sel, sebagai tempat penyimpanan lipid dan granula polifosfat. Mikrotubul dan mikrofilamen berada dalam sitoplasma. Pada *C. albicans* mikrofilamen berperan penting dalam terbentuknya perpanjangan hifa (Tjampakasari, 2006).

Potensi patogen dari *Candida albicans* berkaitan erat dengan perubahan bentuk dari ragi menjadi hifa. Ini berdasarkan pada penampakan faktor virulensi dihubungkan dengan perlekatan dan invasi pada fase hifa dan pengamatan klinis bahwa terdapat hifa pada lesi invatif. Hifa dari *Candida albicans* memiliki kapasitas berkaitan dengan sejumlah struktur molekul pada jaringan tubuh manusia. Termasuk komponen matrik ekstraseluler seperti fibronectin, kolagen, laminin, dan produk konversi komplemen C3. Pendekatan ini diperantai oleh komponen mannoprotein dari permukaan luar fibril organisme, tapi tidak jelas perlekatan tunggal atau ganda yang bertanggung jawab. Sebagaimana protein yang membentuk komponen matrik ekstraseluler host diketahui bersama-sama

membentuk rangkaian spesifik, mungkin saja jika satu molekul *Candida albicans* dapat memperantai perlekatan pada banyak komponen di jaringan host (Sherris, 1994 dalam Nurswida, 2002).

### 2.13 Uji Fitokimia Kombinasi Ekstrak Air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.

Uji fitokimia terhadap ekstrak air 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 (Azzahra, 2015).

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. positif terhadap triterpenoid. Hasil uji fitokimia disajikan pada Tabel 2.1

Golongan senyawa	Pereaksi Uji	Ekstrak Ramuan
Alkaloid	Dragendorff	-
	Mayer	-
Flavonoid	Wilstater	-
Triterpenoid	Lieberman-Burchard	+
Steroid	Lieberman-Burchard	-
Saponin	Forth	-
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	-

Perubahan warna ini disebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada golongan terpenoid/steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (senyawa pentaenilik). Ekstrak temu mangga, jeringau, bawang putih serta ramuan menunjukkan adanya senyawa triterpenoid karena terbentuk cincin kecoklatan pada larutan (Azzahra, 2015).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif dengan dua tahapan. Tahap pertama untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan tahap kedua untuk mengetahui aktivitas antifungi dengan uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dan uji konsentrasi bunuh minimum (KBM).

#### 3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Desember 2015 di Laboratorium Biokimia, Mikrobiologi dan Genetika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang serta di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

#### 3.3 Variabel Penelitian

##### 3.3.1 Variabel bebas

a) Variable bebas yang digunakan adalah kombinasi dalam ramuan

Perlakuan Jamu racik sendiri	Proporsi (%) rimpang jeringau ( <i>Acorus calamus</i> )	Proporsi (%) rimpang temu manga ( <i>Culcuma manggae rhizome</i> )	Proporsi (%) umbi bawang putih ( <i>Alium sativum</i> Linn)
K1	28	36	36
K2	30	30	40
K3	25	40	35

b) Variabel bebas antioksidan : konsentrasi yang digunakan yakni 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm.

c) Variabel bebas antifungi : konsentrasi yang digunakan yakni : 0,390% ; 0,780% ; 1,56% ; 3,13% ; 6,25% ; 12,50% ; 25% ; dan 50%.

### 3.3.2 Variabel terikat

1. Variable terikat pada aktivitas antifungi adalah (tingkat kekeruhan yang dihasilkan pada media KHM dan jumlah koloni bakteri yang dihasilkan KBM) dan aktivitas antioksidan.
2. Variable terikat pada aktivitas antioksidan adalah nilai persen aktivitas antioksidan, nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition concentration 50%*)

### 3.3.3 Variabel terkontrol

1. Variabel terkontrol uji antifungi adalah suhu inkubasi dan media
2. Variabel terkontrol uji antioksidan adalah suhu inkubasi dan panjang gelombang

## 3.4 Alat dan Bahan

### 3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi adalah neraca analitik, kaca arloji, Erlenmeyer 500 mL, *aluminium foil*, *shaker*, gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 100 mL, kertas saring, penyaring *Buchner*, *rotary evaporator vacum*, Erlenmeyer 500 mL, dan gelas vial, spatula, pengaduk kaca, kertas label.

Alat-alat yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah timbangan analitik, pengaduk kaca, beaker glass 200 ml, pipet ukur 5 ml, pipet ukur 2 ml, labu ukur 5 ml, labu ukur 10 ml, tabung reaksi, bola hisap, kuvet, spektrofotometer, spektrofotometer UV-Vis *Varian Carry*, inkubator, sentrifuge, aluminium foil, spatula, pipet dan vortex.

Alat yang digunakan untuk uji antifungi adalah autoklaf, Bunsen, kertas cakram, micrometer, jarum ose, cawan petri, testube, Erlenmeyer 250 ml, gelas

ukur, pinset, pipet ukur 5 ml, pipet ukur 2 ml, jangka sorong, *colony counter*, jarum ose, stirrer, kertas label, kertas cakram, kapas, mikroskop, spektrofotometer, oven, LAF, *hot plate*, inkubator, beaker glass, lemari es, tabung reaksi, vortex, timbangan analitik, spatula, pipet tetes, yellow tip, blue tip, aluminium foil, penggaris dan alat tulis.

### **3.4.2 Bahan**

Bahan utama yang digunakan penelitian ini adalah kombinasi dari simplisia rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), simplisia rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.), dan simplisia bawang putih (*Allium sativum* Linn.).

Bahan kimia yang digunakan untuk uji antioksidan adalah aluminium foil, aquades, 0.1 mM DPPH (2,2 – difenil-1-pikril hidrakazil), vitamin C (E. Merck p.a), etanol.

Bahan yang digunakan untuk uji antifungi adalah SDA, SDB, alkohol 70%, nistatin, aquades steril, spirtus.

## **3.5 Prosedur Penelitian**

### **3.5.1 Preparasi sampel**

Sampel yang digunakan adalah berupa simplisia rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* Linn.) yang diperoleh dari Balai Materia Medika Batu-Malang.

Temu mangga (*Curcuma mngae rhizome*) bagian empunya yang sudah berumur sekitar 8 bulan diproses dan dicuci dengan air bersih tanpa melakukan proses pengupasan untuk menghilangkan kotoran yang berupa tanah atau debu yang menempel pada tanaman temu mangga. Kotoran tanah atau debu ini dapat

mengganggu proses ekstraksi. Setelah pencucian tanaman temu mangga benar-benar bersih, tanaman dirajang dengan menggunakan mesin kemudian dijemur di bawah sinar matahari sampai tanaman menjadi kering. Biasanya penjemuran pada tanaman temu mangga menghabiskan waktu  $\pm$  4 hari. Waktu penjemuran yang dilakukan maksimal jam 12 siang. Apabila tanpa menggunakan sinar matahari langsung dapat menggunakan oven pada suhu 50-60°C, tetapi lebih optimal pada suhu 40°C. Sampel yang sudah dikeringkan tersebut diatur dalam loyang dengan ketebalan rata agar panas yang didapat juga sama rata. Pengeringan yang didapatkan harus mencapai kadar air 10 %. Apabila rendemen kadar air belum mencapai 10 %, maka dilakukan pengeringan lagi sampai dengan batas kadar air yang ditentukan.

Pengeringan dengan menggunakan oven ini dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, aktivitas mikroba dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama dan tidak merusak komposisi kimia di dalam tanaman temu mangga. Tahap selanjutnya setelah dihasilkan sampel yang kering yaitu dengan penggilingan. Penggilingan ini dilakukan dengan menggunakan mesin giling seperti yang tertera pada Lamipran . Penggilingan ini bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi komponen aktif tanaman temu mangga, sehingga didapatkan sampel berupa serbuk yang berwarna kuning kecoklatan. Bentuk serbuk ini membuat ekstraksi semakin efektif (Baraja, 2008).

Jeringau (*Acorus calamus* L.) yang diambil bagian rimpangnya dicuci dengan air bersih sampai bersih untuk menghilangkan kotoran yang berupa tanah atau debu yang menempel pada tanaman jeringau. Kotoran tanah atau debu ini dapat

mengganggu proses ekstraksi. Setelah pencucian, tanaman dikeringkan agar sisa hasil pencucian dapat hilang dan tanaman menjadi kering. Seluruh rimpang dipotong kecil-kecil untuk memperluas permukaan sehingga mempercepat proses pengeringan dan mempermudah penghalusan tanaman jeringau menjadi serbuk. Prinsip dasar yang dilakukan sama dengan prinsip yang digunakan pada tanaman temu mangga (*Curcuma mangga* Val.).

Bawang putih (*Allium sativum* Linn.) bagian umbinya dirajang dengan dipotong menjadi bagian kecil-kecil tanpa harus dicuci terlebih dahulu. Selanjutnya potongan tanaman bawang putih dikeringkan tanpa harus dijemur dibawah matahari. Pengeringan pada tanaman bawang putih ini dengan menggunakan oven pada suhu 40°C. Pengeringan dengan menggunakan oven ini dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, aktivitas mikroba, dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama dan tidak merusak komposisi kimia di dalam tanaman bawang putih. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan alat penghalus yang sesuai dengan gambar pada Lampiran 5 hingga menjadi serbuk. Hal ini bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi komponen aktif tanaman bawang putih, sehingga didapatkan sampel berupa serbuk yang berwarna putih tulang. Bentuk serbuk ini membuat proses ekstraksi menjadi efektif (Baraja, 2008).

Masing-masing ekstrak dihitung rendemennya dengan persamaan:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang digunakan}} \times 100 \% \dots \dots \dots (3.1)$$

### **3.5.2 Ekstraksi kombinasi 1, 2 dan 3 ramuan *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. dengan Metode Maserasi**

Sebanyak proporsi *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. dari masing-masing kombinasi dicampurkan dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 500 ml lalu, ditambahkan pelarut aquades sebanyak 200 ml, kemudian direndam selama 24 jam. Kemudian dishaker selama 3 jam, disaring dengan penyaring Buchner dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama. Tahap ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan sampai filtratnya berwarna bening. Filtrat hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat aquades kombinasi digunakan untuk uji antifungi dan antioksidan.

## **3.6 Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH**

### **3.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh. Dicari  $\lambda_{maks}$  larutan dan dicatat hasil pengukuran  $\lambda_{maks}$  untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Hanani, 2005; Manik, 2011).

### **3.6.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan**

Dibuat larutan ekstrak 400 ppm sebanyak 5 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL. Ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1.5 mL. kemudian dicari waktu kestabilan tanpa inkubasi dan setelah inkubasi pada suhu 37°C dan rentangan waktu 5 – 100 menit dengan interval 5 menit. Sampel diukur menggunakan spektrometri pada  $\lambda_{maks}$  yang telah diketahui sebelumnya .

Pengukuran kapasitas antioksidan pada sampel dilakukan dengan cara masing-masing ekstrak diinkubasi pada suhu 37°C. Tujuan inkubasi adalah untuk mempercepat reaksi antara radikal DPPH dengan sampel yang bertindak sebagai senyawa antioksidan. Suroso (2011), menyatakan bahwa sampel yang diinkubasi akan lebih stabil dan memiliki penurunan absorbansi yang lebih signifikan dibanding sampel yang tidak diinkubasi.

### 3.6.3 Pengukuran Potensi Antioksidan Pada Sampel

- a) Cara membuat kontrol : Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM diambil sebanyak 1,5 ml dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut (etanol dan aquades) sebanyak 4,5 ml. tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil, lalu diinkubasi selama 65 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya. Setelah itu larutan dimasukkan kedalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang 514,9 nm dengan waktu kestabilan 70 menit.
- b) Sampel ekstrak dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400 ppm. Kemudian disiapkan tiga tabung reaksi untuk masing-masing 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 pada suhu 37 °C pada waktu kestabilan 70 menit, kemudian dimasukkan kedalam kuvet hingga penuh dan

diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514,9 nm. Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan persamaan sebagai berikut :

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

Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidannya, selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai  $IC_{50}$  nya dengan memperoleh persamaan regresi menggunakan program “*Graphpad prisma5 software, Regression for analyzing dose-response data*”.

- c) Pembeding asam askorbat (Vitamin C) : diperlakukan seperti sampel akan tetapi diganti asam askorbat (Vitamin C).

### **3.7 Uji Aktivitas Antifungi**

#### **3.7.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan cara dicuci, dikeringkan dan ditutup dengan plastik, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit. Alat-alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi dapat disterilkan dengan menggunakan alkohol 70% (Prescol, 2002).

#### **3.7.2 Pembuatan Media SDA**

Prosedur pembuatan media SDA adalah ditimbang sebanyak 65 gram SDA, lalu dilarutkan dalam 1 liter air destilasi sampai didapatkan suspensi yang homogen dan dipanaskan selama 1 menit. Kemudian suspensi disterilisasi

dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Warsinah dkk., 2011).

### **3.7.3 Pembuatan Media SDB**

Prosedur pembuatan media SDB adalah ditimbang sebanyak 30 gram media SDB, lalu dilarutkan dalam 1 liter air destilasi sampai didapatkan suspensi yang homogen dan dipanaskan selama 1 menit. Kemudian suspensi disterilisasi dalam autoklaf suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Warsinah dkk., 2011).

### **3.7.4 Pembuatan larutan uji**

Sebanyak 0,1 g ekstrak air kombinasi masing-masing perlakuan dilarutkan dalam 0,1 ml pelarut etanol 70% v/v sebagai larutan konsentrasi 100% untuk diuji zona hambatnya dengan metode kertas cakram. Dan dibuat seri pengenceran sebagai larutan uji sebesar 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39% untuk diuji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Pembuatan yang dilakukan mengacu pada penelitian Anggara, *et al.*, (2014) dengan konsentrasi yang digunakan untuk *Candida albicans* yaitu 50%; 25%; 12,5%; dan 6,25%. Sehingga dengan adanya variasi konsentrasi yang dilakukan dapat dibandingkan dari masing-masing konsentrasi yang mempunyai nilai bunuh jamur terendah dapat diketahui.

### **3.7.5 Peremajaan biakan murni jamur *Candida albicans***

Dilakukan inokulum kultur bakteri dari hasil regenerasi ke dalam media SDB 20 ml dengan diambil 1 ose jamur *Candida albicans*. Kemudian diinkubasi

dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan kecepatan shaking incubator 150 rpm (Nurullaili, 2013; Warsinah dkk., 2011).

### **3.7.6 Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans***

Inokulum *Candida albicans* diambil 2 mL, kemudian dimasukkan ke dalam 20 mL media SDB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian diukur kekeruhannya pada panjang gelombang 600 nm dan jumlah sel yang digunakan disetarakan dengan 10<sup>6</sup>cfu/mL dengan berpedoman pada kurva standar (Anggara, *et.al.*, 2014).

### **3.8 Uji Antifungi *Candida albicans* pada masing-masing kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.**

Uji aktivitas antifungi dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (diameter 6 mm). Dimasukkan suspensi jamur *Candida albicans* sebanyak 0,5 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 tiap kombinasi ekstrak air dengan konsentrasi 100% selama 30 menit. Dilakukan kontrol dengan merendam kertas cakram pada nistatin 1%. Kertas cakram tersebut diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 18-24 jam (Suganda, 2003). Setelah 24 jam diamati ada tidaknya zona bening disekitar kertas cakram. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya dengan jangka sorong. Adanya daerah bening di sekeliling cakram kertas menunjukkan adanya aktivitas antifungi.

Luas zona hambat = Luas zona bening – Luas kertas cakram (Dewi, 2010).

### 3.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), dilakukan metode dilusi tabung atau pengenceran dengan melakukan penanaman bakteri pada media SDB pada tabung reaksi (KHM) dan metode dilusi agar dengan melakukan penanaman pada media SDA pada cawan petri (KBM). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah kadar terendah dari antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan pada jamur (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasi selama 18-24 jam (Dzen *et al.*, 2003)

Menurut Anggara *et.al.*, (2014) dalam penelitiannya penentuan KHM suspense jamur  $10^6$  CFU/ml *Candida albicans* diambil 0,5 ml dan dimasukkan kedalam tiap-tiap tabung uji yang berisi 0,5 ml larutan uji dalam berbagai konsentrasi. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diamati ada tidaknya kekeruhan larutan dibandingkan larutan kontrol, untuk menentukan pada konsentrasi berapa ekstrak air mulai menghambat pertumbuhan jamur.

Penelitian ini menggunakan metode pengenceran secara bertingkat. Uji pendahuluan yang digunakan mengacu pada penelitian Anggara, *et al.*, (2014) bahwa untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat membunuh pertumbuhan jamur dengan menggunakan metode pengenceran bertingkat dengan dilusi cair.

Dalam pengenceran yang dilakukan, menggunakan 10 tabung. Pada masing-masing tabung diberi nomor 1 s/d 10 pada tabung setril yang sudah disediakan (Keterangan : tabung no. 1 = kontrol bahan, tabung no.2-9 = larutan antifungi (ekstrak uji), dan tabung no. 10 = kontrol mikroba). Dibuat larutan

antifungi dan ekstrak dengan konsentrasi 100% (ditambah *emulsion fyer/tween* 80%). Dimasukkan ekstrak sebanyak 200  $\mu\text{L}$  di tabung no. 1. Dimasukkan ekstrak sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada tabung no. 2. Dimasukkan ekstrak sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada tabung no. 3. Dimasukkan aquades sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada tabung no. 3 sampai dengan tabung no. 10. Dicampur (divortex) hingga rata tabung no. 3, kemudian diambil dan dipindahkan sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung no. 4. Dicampur (divortex) hingga rata tabung no. 4, kemudian diambil dan dipindahkan sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung no. 5. Dikerjakan hal yang sama terhadap tabung no. 5 s/d 9. Pada tabung no. 9, setelah tercampur merata larutan dibuang sebanyak 100  $\mu\text{L}$ . Kemudian ditambahkan perbenihan cair kuman (jamur *Candida*  $10^6$  pada media SDB) sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung 2-10. Dengan demikian volume masing-masing tabung menjadi 200  $\mu\text{L}$ , sehingga konsentrasi akhir antifungi berubah. Dari pengenceran tersebut, maka konsentrasi awal dari masing-masing tabung (antifungi) berubah. Setelah dilakukan pengenceran, kemudian diinkubasi semua tabung pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18-24 jam. Kemudian dilihat dan dicatat pada tabung ke berapa tampak terjadi kekeruhan.

Dilanjutkan dengan uji KBM, dilakukan uji lanjutan dengan cara mengambil 1 mL dari konsentrasi yang menunjukkan KHM, ditumbuhkan pada media SDA Agar secara pour plate, lalu diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. KBM ditentukan jika setelah diinkubasi tidak terdapat koloni bakteri yang tumbuh pada cawan petri.

Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak yang mampu membunuh jamur uji (*Candida albicans*), yaitu tidak

adanya pertumbuhan koloni mikroba setelah biakan yang jernih diinokulasikan ke medium agar yang nantinya diinkubasi dan kemudian diamati keesokan harinya, atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inoculum awal (*original inoculum/OI*) pada medium *Sabouraud Dextrosa Agar* (SDA) yang telah dilakukan penggoresan sebanyak 1(satu) ose dengan metode *streak* hitung (Winarsih,2001).

### **3.10 Penghitungan Koloni Bakteri secara “Pour Plate” (Khunaifi, 2010).**

Setelah biakan di inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C lalu dilakukan pengamatan biakan bakteri dan dihitung dengan menggunakan *Colony Counter*. Biakan yang dihitung Diambil koloni yang tumbuh sesuai dengan standar plat count yaitu 30-300 koloni per cawan. Adapun cara menghitung koloni adalah sebagai berikut:

- a. Satu koloni dihitung 1 koloni
- b. Dua koloni yang bertumpuk dihitung 1 koloni
- c. Beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni
- d. Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni
- e. Satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dihitung sebagai 1 koloni
- f. Satu koloni yang membentuk satu deretan atau rantai dan terlihat sebagai satu garis tebal dihitung sebagai 1 koloni
- g. Dari hasil penghitungan yang dilakukan, kemudian dihitung jumlah koloni per ml dengan cara sebagai berikut:

$$\text{jumlah koloni} = \text{jumlah koloni tiap cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengencer}}$$

Faktor pengenceran = pengenceran  $\times$  jumlah yang diencerkan.

### 3.11 Analisa data

#### 3.11.1 Analisis Data Uji Antioksidan

Analisis data uji antioksidan dilakukan dengan menghitung persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi masing-masing ekstrak dan pembanding yaitu asam askorbat (vitamin C), kemudian dilakukan perhitungan  $IC_{50}$  dengan menggunakan persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak (x) dengan persen (%) aktivitas antioksidan (y). Persamaan regresi menggunakan program “*Graphpad prisma5 software, Regression for analyzing dose-response data*”. 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.

#### 3.11.2 Analisis Data Uji Antifungi

Data yang diperoleh pada uji aktivitas antifungi adalah konsentrasi kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn., jumlah koloni jamur atau bakteri dan hasil pengukur zona hambat. Uji yang dilakukan pada antifungi menggunakan uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Uji KHM dengan mengetahui kadar atau konsentrasi minimal yang mampu menghambat pertumbuhan jamur uji. Sedangkan uji KBM dengan mengetahui kadar atau konsentrasi minimal yang mampu membunuh bakteri uji yaitu tidak adanya

pertumbuhan koloni mikroba setelah biakan yang jernih diinokulasikan ke medium agar (Winarsih, 2011).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1.1 Uji antioksidan kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.

##### 4.1.1 Hasil Rendemen dari Kombinasi Ekstrak Air

Ekstraksi pada simplisia temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) menggunakan metode maserasi dengan variasi kombinasi ekstrak yang berbeda.

Hasil maserasi dari kombinasi ekstrak air temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) kombinasi pertama (K1), kombinasi kedua (K2) dan kombinasi ketiga (K3) ditunjukkan pada Tabel 4.1 sebagai berikut :

**Tabel 4.1** Hasil Rendemen Kombinasi Ekstrak Air K1, K2 dan K3

Perlakuan	Rendemen (%) (b/b)
K1	11,3601
K2	10,358
K3	7,95982

Berdasarkan Tabel 4.1 diatas, rendemen ekstrak pekat pada kombinasi ekstrak air temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) berurutan pada masing-masing kombinasi yaitu pada kombinasi pertama (K1) sebesar 11,3601 %, K2 sebesar 10,358 % dan K3 sebesar 7,95982%. Dari hasil rendemen pada masing-masing komposisi dapat dilihat bahwa dari ketiga kombinasi yang mempunyai nilai rendemen paling tinggi diantara ketiganya yaitu pada rendemen kombinasi pertama (K1). Hal ini

dimungkinkan karena bahan baku yang dianalisis dalam tiap simplisia pada kombinasi ekstrak air pertama (K1) banyak mengekstrak senyawa polar sehingga rendemennya tinggi. Keberhasilan ekstraksi maserasi ditentukan oleh waktu perendaman dan pengocokan (pengadukan) sampel (Ansel, 1989), tergantung pada nilai distribusi, volume relatif kedua fase, kadar air, pelarut yang digunakan, penyaringan dan pemekatan sampel (Rohman dan Gandjar, 2007).

Pada hasil rendemen yang disebutkan terkait perubahan warna filtrat yang diperoleh dari masing-masing kombinasi K1, K2 maupun K3 terjadi perubahan warna filtrat pada hasil maserasi terakhir. Berdasarkan hasil yang diperoleh (Lampiran 5) disebutkan perubahan dari warna nya yang semula coklat pekat menjadi bening kekuningan, hal ini menandakan bahwa senyawa yang tercampur dengan pelarut air tertarik ke dalam hasil substrat sehingga filtrat yang dihasilkan sudah terpisah dengan senyawa yang terkandung pada masing-masing simplisia . Penelitian lain menyebutkan perbedaan metode ekstraksi yang digunakan oleh Wafa (2012) dan pelarut yang digunakan oleh Karnila (2011) dimungkinkan menjadi perbedaan hasil rendemen dengan penelitian ini. Ekstraksi yang digunakan oleh Wafa (2012) adalah ekstraksi maserasi yang dilanjutkan dengan partisi, dan pelarut yang digunakan oleh Karnila adalah pelarut air. Kemudian ekstrak pekat yang didapatkan pada penelitian ini akan digunakan untuk uji selanjutnya.

#### **4.1.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dari Kombinasi Ekstrak Air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. Hasil Ekstraksi Dengan Metode DPPH**

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum yang diperoleh dalam uji ini sebesar 514,9 nm (Lampiran 4). Hasil penentuan waktu kestabilan sampel

vitamin C dilakukan pada rentang waktu 25-35 menit (Lampiran 4), karena pada waktu ini merupakan waktu kestabilan antara sampel yang mengandung senyawa antioksidan dengan radikal DPPH. Penentuan waktu kestabilan pengukuran antioksidan pada kombinasi ekstrak air temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) K1 menghasilkan absorbansi yang stabil dengan rentang waktu antara 70-80 menit (Lampiran 3). Sedangkan penentuan waktu kestabilan pada kombinasi ekstrak kombinasi kedua (K2) yaitu rentang waktu sama antara 70-80 menit (Lampiran 3). Dalam inkubasi tersebut diduga bahwa sampel yang mengandung senyawa antioksidan telah maksimal dalam menghambat radikal bebas DPPH. Hal ini ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil. Pada kombinasi ekstrak air kombinasi ketiga (K3) menghasilkan waktu kestabilan dengan rentang waktu yang sama yaitu antara 70-80 menit (Lampiran 3).

Proses inkubasi dilakukan pada suhu 37°C, dimana pada suhu 37°C diduga merupakan suhu yang sudah terkondisikan agar reaksi antara radikal DPPH dan senyawa antioksidan dapat berlangsung lebih cepat dan optimal. Hal ini dapat dilihat hubungan suhu dengan laju reaksi, dimana suhu merupakan salah satu faktor yang dapat mempercepat laju reaksi. Pada saat proses inkubasi pada suhu 37°C terjadi perubahan warna larutan uji dari warna ungu berubah menjadi kuning. Secara umum semua konsentrasi dari ekstrak-ekstrak mengalami perubahan warna ungu menuju warna kuning setelah pengukuran absorbansi. Perubahan ungu menjadi kuning seiring dengan menurunnya absorpsivitas molar dari molekul DPPH karena elektron yang tidak berpasangan dengan pemberian atom hidrogen

dari antioksidan membentuk DPPH-H tereduksi. Perubahan secara stoikiometri berdasarkan jumlah elektron yang tertangkap.

Aktivitas penangkapan radikal bebas atau antioksidan ditunjukkan dengan persentase berkurangnya warna ungu dari DPPH. Berdasarkan nilai absorbansi dapat diambil kesimpulan bahwa sampel dengan inkubasi lebih stabil dikarenakan terjadi penurunan nilai absorbansi yang signifikan pada saat pengukuran.

Kontrol pembanding yang dilakukan pada uji antioksidan ini menggunakan pembanding vitamin C. Menurut Silalahi (2006) menyatakan bahwa vitamin C (L-asam askorbat) merupakan suatu antioksidan yang secara efektif menangkap radikal-radikal  $O_2^{\bullet-}$ ,  $OH^{\bullet-}$ , dan  $ROO^{\bullet}$  dan juga berperan dalam regenerasi vitamin E.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam menjadi radikal yang lebih stabil (Suhartono dalam Koncahyo, 2007). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007). Pengujian antioksidan pada kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) kombinasi pertama (K1), kombinasi kedua (K2) dan kombinasi ketiga (K3) ini menggunakan metode DPPH. Radikal DPPH merupakan senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dan berwarna ungu gelap (Reynertson, 2007). Metode DPPH ini merupakan metode kometri (didasarkan perubahan warna) yang sederhana, cepat dan mudah untuk *screening* aktivitas

penangkapan radikal beberapa senyawa (Koleva *et al.*, 2001 cit Marxen *et al.*, 2007 dalam Pramitasari).

Radikal DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 518 nm. Warna akan berubah kuning saat elektron berpasangan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Prakash, 2001).

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Pengertian antioksidan secara biologis adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007).

Uji antioksidan merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mengukur kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Jika terbentuk dalam tubuh, akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal baru yang jumlahnya terus bertambah sehingga dapat menimbulkan berbagai penyakit degeneratif

(Rahayu, *et.al*, 2010). Radikal bebas ini dapat dinetralisir oleh senyawa antioksidan.

Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektron berpasangan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Prakash *et al.*, 2001).

Pada proses inkubasi reaksi yang terjadi antara radikal DPPH dengan senyawa aktif akan berlangsung lebih cepat dan optimal akibat adanya suhu, dan senyawa radikal DPPH akan tereduksi menjadi DPPH-H, yang ditandai dengan adanya perubahan warna. Banyaknya atom hidrogen yang didonorkan oleh molekul antioksidan dapat diketahui secara kualitatif dengan terjadinya perubahan warna radikal DPPH dari ungu menjadi kuning setelah dan sebelum inkubasi.

Hasil pengukuran masing-masing kombinasi ekstrak ketika ditambahkan larutan DPPH tidak mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning, akan tetapi setelah diinkubasi pada kombinasi ekstrak air kombinasi K1, K2 dan K3 mengalami perubahan warna dari sebagian konsentrasi yang digunakan dari ungu agak pekat menjadi ungu pudar. Antioksidan Vitamin C pada saat pengukuran aktivitas antioksidannya juga mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning setelah inkubasi. Perubahan warna ini terjadi dikarenakan adanya penangkapan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas DPPH

(ungu) yang kemudian tereduksi menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) berwarna kuning (Rahayu *et al.*, 2010).

Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan cukup sederhana, yaitu dengan mendonorkan atom H kepada radikal bebas. Penangkapan atom H oleh radikal bebas menyebabkan perubahan warna pada kombinasi ekstrak air kombinasi 1, 2 dan 3 dari ungu menjadi ungu pudar. Warna yang dihasilkan mengindikasikan bahwa atom H yang dapat didonorkan oleh antioksidan jumlahnya sedikit sehingga penghambatan antioksidan terhadap radikal rendah. Senyawa-senyawa yang memungkinkan mendonorkan elektronnya memiliki aktivitas penangkapan radikal yang kuat. Senyawa tersebut adalah golongan senyawa fenol, flavonoid, tannin dan alkaloid (Aryanti *et al.*, 2009).

Mekanisme reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan adalah  $DPPH^{\cdot} + AH \rightarrow DPPH-H + A^{\cdot}$ . Reaksi yang cepat dari radikal DPPH terjadi dengan beberapa fenol, misalnya  $\alpha$ -tokoferol, tetapi reaksi sekunder lambat menyebabkan penurunan absorbansi yang progresif, sehingga keadaan *steady state* tidak akan dicapai untuk beberapa jam (Pokorny, 2001).

Pengujian antioksidan ini dilakukan terhadap ketiga kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.). Pengujian ketiga kombinasi ekstrak ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan yang baik dari salah satu kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) tersebut. Pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel selalu menggunakan kontrol yaitu larutan DPPH

0,2 mM. Larutan DPPH kontrol digunakan untuk memberikan kestabilan pada saat pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel (Arindah, 2010).

Menurut Molyneux (2003) nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam larutan stok DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan *baseline* untuk pengukuran saat itu.

Proses pengukuran antioksidan dengan metode DPPH ini ditandai dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning, setelah dan sebelum inkubasi. Proses inkubasi yang dilakukan selama 70 menit. Ekstrak kombinasi air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) pada kombinasi pertama (K1) dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm dan 400 ppm terjadi perubahan warna dari ungu pekat menjadi warna ungu pudar dan pada konsentrasi 200 ppm dan 400 ppm terjadi perubahan menjadi warna kuning setelah diinkubasi selama 70 menit. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 5.

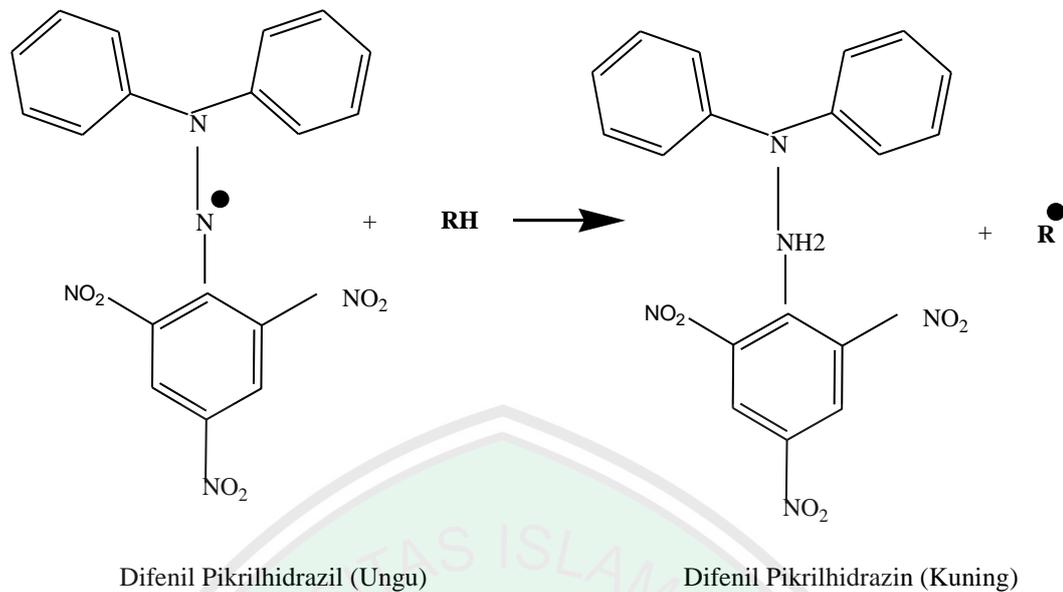
Kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) pada kombinasi kedua (K2) perubahan warna menjadi kuning hanya terjadi pada konsentrasi 400 ppm. Pada kombinasi ekstrak air K2 ini perubahan warna menjadi kuning tidak terlalu nampak. Hal ini menandakan bahwa pada kombinasi K2 memiliki kemampuan antioksidan yang sangat kecil. Hal ini dapat dilihat pada Lampiran 5.

Sedangkan pada kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.)

kombinasi ketiga (K3) pada semua konsentrasi semula berwarna ungu pekat kemudian setelah diinkubasi selama 70 menit berubah menjadi kuning pada konsentrasi 200 ppm dan 400 ppm. Pada pembandingan vitamin C terdapat perubahan warna yang sangat cepat setelah ditambahkan dengan DPPH. Hal ini dapat dilihat di Lampiran 5.

Dalam pengukuran antioksidan pembandingan yang digunakan sebagai kontrol positif yaitu vitamin C. Vitamin C digunakan sebagai pembandingan karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Praptiwi, Dewi, & Harapini, 2006). Maslarova (2001) menyatakan bahwa vitamin C termasuk golongan antioksidan sekunder yang mampu menangkap berbagai radikal bebas ekstraseluler. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Isnindar, Wahyuono & Setyowati, 2011).

Berdasarkan hasil pengukuran tampak bahwa kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) serta pembandingan (vitamin C) mengalami perubahan yang cukup signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) mampu mendonorkan atom H-nya dalam jumlah yang cukup untuk meredam radikal DPPH. Mekanisme perubahan warna yang dihasilkan sehingga dapat meredam radikal DPPH ditunjukkan pada bagan berikut



**Gambar 4.1** Mekanisme peredamaman radikal DPPH

Uji antioksidan pada ketiga kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) dengan metode DPPH menggunakan parameter pengujian antioksidan yaitu persen (%) aktivitas antioksidan. Persen aktivitas antioksidan menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas (dalam bentuk %). Data % aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) serta pembandingan vitamin C ditunjukkan pada Tabel 4.9 berikut ini :

**Tabel 4.2** Hasil pengukuran % aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak air K1, K2, K3 dan pembanding

(x) Konsentrasi (ppm)	(y) Aktivitas antioksidan (%)			
	K1	K2	K3	Pembanding Vitamin C
25	4.794521	5.385897	10.82215	39.85344
50	11.830240	5.381166	0.2035	93.02457
100	32.076470	7.118771	6.720978	92.9096
200	54.661690	31.7174	26.42045	92.1813
400	64.445630	45.74669	47.42394	91.20318

Tabel 4.2 menjelaskan bahwa kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. pada kombinasi pertama (K1) mempunyai potensi aktivitas antioksidan yang sedang, hal ini ditunjukkan dengan kemampuannya menghambat perkembangan radikal bebas sebesar 64.445630 % pada konsentrasi 400 ppm. Pada kombinasi ekstrak air kedua (K2) mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah, karena mampu menghambat radikal bebas sebesar 45.74669 % pada konsentrasi 400 ppm. Sedangkan pada kombinasi ekstrak air ketiga (K3) juga mempunyai potensi sebagai aktivitas antioksidan yang lemah, karena mampu menghambat radikal bebas sebesar 47.42394 % pada konsentrasi 400 ppm dan pada vitamin C memiliki % antioksidan kuat pada konsentrasi 50 ppm yaitu sebesar 93.02457 %.

Sandrasari (2008), menyatakan bahwa suatu senyawa yang mempunyai kapasitas antioksidan sangat kuat jika menghambat perkembangan radikal bebas lebih dari 80 % sedang jika menghambat sekitar 50-80 %, dan lemah jika memiliki penghambatan kurang dari 50 %. Apabila persen (%) antioksidan sampel sama atau mendekati nilai aktivitas antioksidan pembanding maka dapat dikatakan bahwa sampel tersebut berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan.

Berdasarkan hasil pengukuran, diketahui nilai aktivitas antioksidan antara ketiga kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) jika dibandingkan dengan nilai persentase aktivitas pembanding kurang berpotensi dalam aktivitas antioksidan karena terlihat bahwa perbandingan antara hasil sampel dengan pembanding beda jauh dengan hasil yang didapatkan dengan kontrol positif pada sampel pembanding.

Tujuan penggunaan pembanding ini yaitu untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang terdapat pada masing-masing ekstrak racik aquades tersebut. Apabila % kapasitas antioksidan sampel sama atau mendekati nilai % kapasitas antioksidan pembanding maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan (Yuliani, 2010).

Parameter selanjutnya untuk mengetahui kemampuan antioksidan dalam sampel adalah nilai  $IC_{50}$ . Analisis berikutnya adalah mengolah hasil % aktivitas antioksidan dengan menggunakan persamaan regresi non linier, disesuaikan dengan data yang diperoleh, dan dihitung menggunakan “*GraphPad prism5 software, regression for analyzing dose-response data*” untuk memperoleh persamaan dan nilai  $IC_{50}$  yang tercantum pada Lampiran 4 . Dari persamaan tersebut diharapkan variabel titik bebas (y) yaitu persen aktivitas antioksidan mempunyai hubungan erat dengan konsentrasinya (x) (variabel bebas) dimana besarnya perubahan nilai y sebagai akibat dari perubahan setiap unit nilai x (Husnah, 2009). Hubungan dari nilai variabel (x) dan (y) ditunjukkan dengan nilai  $R^2$  untuk mengetahui seberapa

besar pengaruh variabel (x) yaitu konsentrasi dengan % aktivitas antioksidan pada variabel (y).

Parameter  $IC_{50}$  merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50 %. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman dan Riyanto, 2005). Begitu sebaliknya, semakin besar nilai  $IC_{50}$ , maka semakin tidak efektif sampel tersebut sebagai antioksidan. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  bernilai kurang dari 50 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika bernilai 150-200 ppm (Mardawati, 2008). Kombinasi ekstrak air P1, P2, P3 dan vitamin C memiliki nilai  $IC_{50}$  yang berbeda. Data hasil nilai  $IC_{50}$  tercantum pada Lampiran sedangkan hasil  $IC_{50}$  dapat dilihat pada Tabel 4.3

**Tabel 4.3** Hasil nilai  $IC_{50}$  pada kombinasi ekstrak air K1, K2, K3 dan vitamin C

No	Sampel	$IC_{50}$ (ppm)	Kriteria
1.	Kombinasi 1	202.7	Sedang
2.	Kombinasi 2	431.9	Lemah
3.	Kombinasi 3	420.9	Lemah
4.	Vitamin C	27.59	Kuat

Berdasarkan hasil nilai  $IC_{50}$  diatas dapat diketahui bahwa dalam kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) kombinasi pertama (K1) menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 202.7 ppm sehingga termasuk dalam kategori sedang. Pada kombinasi kedua (K2) mempunyai nilai  $IC_{50}$  sebesar 431.9 ppm sehingga termasuk dalam kategori lemah. Pada kombinasi ketiga (K3) mempunyai

nilai IC<sub>50</sub> sebesar 420.9 ppm sehingga termasuk dalam kategori lemah. Sedangkan pembanding vitamin C yang digunakan mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 27.59 ppm sehingga termasuk dalam kategori kuat.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa dari kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) yang mempunyai aktivitas antioksidan yang paling berpotensi yaitu kombinasi ekstrak air dari temu mangga (*Curcuma mangae rhizome*), jeringau (*Acorus calamus*) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) kombinasi pertama (K1).

#### 4.2 Kandungan Senyawa Kimia Kombinasi Ekstrak Air Dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L. Dan *Allium sativum* Linn.

Allah menganjurkan kepada umat manusia yang telah diberi kelebihan akal untuk mengkaji segala sesuatu yang ada di langit dan bumi. Sesuai dengan firman Allah dalam QS. Ali-Imran (3):190-191 yang berbunyi,

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾  
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ  
 وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

Menurut Shihab (2002) dalam tafsir Al-Mishbah bahwa terdapat perintah Allah ﷻ kepada manusia yang telah diberi kenikmatan berupa akal dan pikiran

untuk meneliti dan mengkaji segala sesuatu yang ada di langit dan bumi, karena tidak ada hasil ciptaan Allah ﷻ yang sia-sia. Allah menciptakan manusia dan memuliakannya sebagai makhluk yang paling istimewa. Oleh karena itu dengan akal dan pikiran, manusia diharapkan mampu mengkaji ciptaan Allah (tumbuhan) yang diciptakan dengan berbagai macam manfaat. Manfaat yang terdapat pada tumbuhan salah satunya dapat digunakan sebagai antifungi. Untuk mengetahui kandungan yang terdapat pada tumbuhan yang mempunyai aktivitas antifungi perlu dilakukan uji fitokimia.

Berdasarkan hasil penelitian lanjutan yang dilakukan oleh Azzahra (2015) menunjukkan bahwa dalam kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. terbukti hanya mengandung senyawa triterpenoid, hal ini membuktikan bahwa dalam kombinasi ekstrak air tidak mengandung senyawa metabolit sekunder yang lain selain senyawa triterpenoid.

Triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C 30 asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Widiyati, 2006).

Sebagian besar senyawa triterpenoid mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga dalam kehidupan sehari-hari banyak digunakan sebagai obat seperti untuk pengobatan penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria. Sedang bagi tumbuhan yang mengandung senyawa triterpenoid terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja

sebagai anti fungus, insektisida, anti pemangsa, anti bakteri dan anti virus (Widiyati, 2006).

#### 4.3 Uji Aktivitas Antifungi Dari Kombinasi Ekstrak Air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., Dan *Allium sativum* Linn. Terhadap *Candida albicans*.

Allah ﷻ berfirman dalam surat Al-Baqoroh ayat 29 yang berbunyi :

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

“Dialah Allah yang menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi untuk kamu, kemudian Dia berkehendak menuju langit lalu Dia jadikan tujuh langit dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu”

Lafadz yang berartikan “Dia-lah Allah yang menciptakan segala yang ada di bumi untuk kamu” mempunyai makna yang begitu mendalam. Makna pertama, menunjukkan bukti kasih sayang Allah kepada makhluk-Nya, bahwa Allah memberikan fasilitas berupa semua yang ada di bumi dan di langit semata-mata untuk makhluk-Nya, terkhusus manusia agar mereka mau memanfaatkannya dalam rangka beribadah kepada Allah.

Allah menciptakan segala sesuatu di bumi ini tanpa sia-sia, meskipun kita sebagai manusia tidak mengetahui proses penciptaannya. Salah satu bukti penciptaan Allah yakni menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang indah, hijau, dan memberikan manfaat bagi makhluk Allah yang lain.

Dari sebuah penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui beberapa tanaman yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida*, yaitu seledri, bawang putih, sambiloto, jahe, kunyit dan sebagainya ( Sundari D dalam Chandra

*et.,al*, 2011). Penelitian tersebut telah membuktikan bahwa tanaman-tanaman tersebut dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh kombinasi ekstrak air temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), jeringau (*Acorus calamus*) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) disajikan pada Tabel 4.4

**Tabel 4.4** Hasil Rata-Rata Diameter Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Air dan Kontrol Pembanding

Jenis ekstrak	Rata-rata (mm)	Kategori
Kombinasi 1	2,77222	Lemah
Kombinasi 2	4,50222	Lemah
Kombinasi 3	1,88333	Lemah
Nistatin	18,45444	Kuat
Etanol	3,12	Lemah

Berdasarkan tabel 4.4 zona hambat yang dihasilkan oleh kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L. dan *Allium sativum* Linn. lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif yang digunakan yaitu nistatin. Hal ini dikarenakan nistatin merupakan senyawa kimia tunggal sebagai antifungi sedangkan kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L. dan *Allium sativum* Linn. hanya berupa hasil maserat yang masih banyak mengandung senyawa kimia lain. Semakin sedikit jumlah koloni jamur yang ditimbulkan dari kombinasi ekstrak air terhadap nistatin dalam uji daya hambat atau daya bunuh maka semakin besar peluang ekstrak menjadi sumber antifungi. Menurut Davis dan Stout (1971), jika diameter zona hambat 5 mm atau kurang maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah, diameter zona hambat sebesar 5-10 mm maka dikategorikan sedang dan jika zona hambat sebesar 10 mm atau lebih maka aktivitas penghambatan dikategorikan kuat.

Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. K1, K2 maupun K3 menghasilkan diameter zona hambat kategori lemah. Rendahnya zona hambat dalam penelitian ini, kemungkinan disebabkan oleh adanya proses pemanasan menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk menghilangkan pelarut untuk memperoleh ekstrak pekat setelah proses maserasi.

Lemahnya efektivitas kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. ini kemungkinan terjadi karena kandungan fitokimianya yang muncul dalam penelitian ini hanya mengandung senyawa triterpenoid sehingga kurang kuat dalam menghambat jamur *Candida albicans*. Jadi pada kombinasi ekstrak air ini menunjukkan zona hambat yang lebih rendah, hal ini kemungkinan disebabkan karena jamur *Candida albicans* sudah mengalami resisten terhadap berbagai zat antibakteri, sehingga senyawa-senyawa metabolitnya tidak bisa bekerja secara maksimal.

Berdasarkan hasil rata-rata yang diperoleh pada tiap kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. nampak berbeda antara zona hambat yang dihasilkan. Terlihat pada kombinasi ekstrak air (K2) mempunyai rata-rata zona hambat yang lebih besar diantara ketiganya. Hal ini disebabkan karena konsentrasi (komposisi) dan aktivitas metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak memiliki skala variasi yang luas. Jenis tanaman yang sama dengan komposisi yang berbeda dalam tiap kombinasi dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan konsentrasi dan aktivitas yang berbeda atau mengandung struktur gugus kimia yang berbeda. Jadi konsentrasi dan aktivitas

metabolit sekunder juga bervariasi secara spasial (bagian-bagian : akar, rhizoma dan daun) dan secara temporal (skala hari, bulan dan tahun) (Haris *et al.*, 2012).

Berdasarkan uji lanjut yang dilakukan oleh Azzahra (2015) menunjukkan hasil bahwa dalam kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. setelah diuji kandungan fitokimianya menghasilkan senyawa triterpenoid. Menurut Widiyati (2016), bagi tumbuhan yang mengandung senyawa triterpenoid terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai anti jamur, insektisida, anti pemangsa, anti bakteri dan anti virus.

Mekanisme kerja antifungi diantaranya adalah dengan menimbulkan gangguan pada membran sel. Gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel jamur. Ergosterol merupakan komponen sterol yang sangat penting dan sangat mudah diserang oleh antibiotik turunan polien, Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur seperti : ion K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino dan ester fosfat bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel jamur. Mekanisme kerja antifungi yang lain yaitu dengan menghambat biosintesis ergosterol dalam sel jamur. Mekanisme kerja antifungi ini yaitu dengan menimbulkan ketidakaturan membran sitoplasma fungi dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik sehingga menghambat biosintesis ergosterol dari sel jamur (Rochani, 2009).

Konsentrasi kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. terhadap jamur *Candida albicans* masih

sangat jauh dibandingkan konsentrasi pembanding nystatin. Hal ini disebabkan karena kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. yang digunakan masih berupa ekstrak alami dan bukan merupakan senyawa murni, sedangkan nystatin merupakan zat aktif antimikroba yang relatif murni.

Zat antimikrobal fungistatik bersifat menghambat kerja enzim tertentu yang mengakibatkan terganggunya metabolisme sel fungi, sehingga proses pemanjangan hifa (misellium) fungi menjadi terhambat. Jika pertumbuhan sel fungi yang ditandai dengan pemanjangan hifa (misellia) terhambat, maka fragmentasi hifa pun menjadi terganggu sehingga dapat dikatakan bahwa sel fungi tidak dapat berkembangbiak. Hifa atau miselium yang tidak dapat mengalami fragmentasi disebabkan oleh rusaknya jaringan hifa selnya mengakibatkan sel fungi pada saat bersamaan menjadi peka dan rentan terhadap perubahan lingkungan, sehingga sel fungi mudah mati.

Rahman dan Aditya (2010) menambahkan, senyawa yang bersifat fungistatik misalnya senyawa fenolik dapat mendenaturasi protein, yaitu kerusakan struktur tersier protein sehingga protein kehilangan sifat-sifat aslinya. Terdenaturasinya protein dinding *Candida albicans* akan menyebabkan kerapuhan pada dinding sel tersebut sehingga mudah ditembus zat aktif lainnya yang bersifat fungistatik. Jika protein yang terdenaturasi adalah protein enzim maka enzim tidak dapat bekerja yang menyebabkan metabolisme dan proses penyerapan nutrisi terganggu.

Masing-masing agen senyawa kimia mempunyai mekanisme pekerjaan tersendiri dalam menghambat maupun mematikan jamur dan salah satu kelemahan ekstrak alami untuk bahan antimikroba yaitu tidak konsistennya pengaruh yang ditimbulkan, karena jenis dan kadar kandungan bahan-bahan aktif yang diperoleh dari tiap ekstraksi tidak selalu sama, tergantung cara ekstraksi, umur, bagian organ tanaman yang diekstrak serta lingkungan tempat tumbuh tanaman. Senyawa antimikroba yang berdifusi kedalam media agar dapat menyebabkan terhambatnya pembentukan dinding sel sehingga dibatasi oleh membran yang tipis dan dapat lisis (Madigan dkk., 1997 dalam Widawati, dkk., 2012).

Menurut Tortora (2001), aktivitas antibiotik yang sensitif menghambat pertumbuhan bakteri baik golongan bakteri gram positif maupun gram negatif, dikatakan mempunyai spektrum yang luas. Sebaliknya suatu antibiotik yang hanya efektif terdapat golongan bakteri gram tertentu dikatakan antibiotik spektrum sempit.

Fungi uji *Candida albicans* memiliki struktur dinding sel yang lebih kuat dan lebih kompleks sehingga sulit untuk diuraikan dimana memiliki tingkat ketebalan 100 sampai 400 nm (Waluyo, 2004). *Candida albicans* juga memiliki enam lapisan (dari luar ke dalam) yaitu fibrillar layer, mannoprotein,  $\beta$ -glucan-chitin, dan membran plasma, sehingga senyawa yang terkandung tiap ramuan tidak dapat merusak dinding sel pada *Candida albicans* (Kusumaningtyas, 2009).

*Candida albicans* mempunyai membran yang terdiri dari lipid dan protein. Lipid pada membrane membentuk suatu sawar yang dapat mencegah pergerakan bebas air dan bahan yang larut air dari suatu ruang sel ke ruang yang lain. Membran

lipid ganda impermeabel terhadap bahan-bahan yang umumnya larut dalam air seperti ion, glukosa dan urea. Ergosterol merupakan lapisan sterol penting pada jamur yang berfungsi membantu menentukan permeabilitas lapisan ganda serta mengatur sebagian besar sifat cair dan membran. Ergosterol ini tidak memiliki oleh bakteri, virus, maupun riketsia (Guyton & Hall, 2002).

Kontrol antibiotik yang digunakan adalah nistatin dengan konsentrasi 100% menunjukkan zona hambat 18,45444 mm berpengaruh terhadap jamur *Candida albicans*, aktivitas penghambatannya dalam kategori kuat. Menurut Setiabudy (1995), nistatin banyak digunakan untuk mengobati infeksi *Candida*. Sekalipun nistatin mempunyai struktur kimia dan mekanisme kerja mirip amfoterisin B, nistatin lebih toksik sehingga tidak digunakan sebagai obat sistemik.

Larutan kontrol positif yang digunakan berupa nistatin merupakan suatu senyawa kimia yang dinilai tepat sebagai kontrol positif. Nistatin 100 IU memiliki aktivitas antifungi yaitu dengan menghambat sterol (terutama ergosterol) dalam membran sel fungi. Nistatin tidak aktif melawan organisme misalnya bakteri, karena bakteri tidak mempunyai sterol pada membran selnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Siswandono dan Soekardjo (2000) menyatakan mekanisme antifungi dikelompokkan menjadi empat yaitu gangguan pada membran sel, penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel fungi, penghambatan sintesis asam nukleat dan potensi fungi dan penghambatan mitosis fungi. Penelitian Giang (2010) dan Suryadi (2012) menggunakan nistatin sebagai kontrol positif dan mendapatkan diameter zona hambat yang sedang sehingga digunakan sebagai acuan untuk menentukan

efektif tidaknya ekstrak berbagai jenis lamun dalam menghambat pertumbuhan fungi.

Nistatin hanya akan diikat oleh jamur yang sensitif. Efek antifungi tergantung dari adanya ikatan dengan ergosterol pada membran sel jamur. Akibat terbentuk ikatan antara sterol dan antibiotik ini terjadi perubahan permeabilitas membran sehingga sel jamur akan kehilangan berbagai senyawa. Nistatin digunakan untuk infeksi *Candida* di kulit, mukosa, dan saluran pencernaan. Obat ini efektif untuk kandidiasis kuku dan kulit yang mengalami hiperkeratinisasi atau berkrusta (Setiabudy & Bahry, 2007).

Kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. mengandung terpenoid. Terbentuknya zona hambat menunjukkan adanya aktivitas antifungi, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

#### **4.4 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.**

Setiap penyakit yang menimpa makhluk Allah pasti ada obatnya karena sesungguhnya Allah telah menyiapkan segala macam obat untuk menyembuhkan penyakit. Sesuai firman Allah dalam QS. Yunus (10): 57 yang berbunyi,

يَأْتِيهَا النَّاسُ قَدْ جَاءَتْكُمْ مَوْعِظَةٌ مِّن رَّبِّكُمْ وَشِفَاءٌ لِّمَا فِي الصُّدُورِ وَهُدًى

وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ ﴿٥٧﴾

Artinya : “Hai manusia, sesungguhnya telah datang kepadamu pelajaran dari Tuhanmu dan penyembuh bagi penyakit-penyakit (yang berada) dalam dada dan petunjuk serta rahmat bagi orang-orang yang beriman”.

Berdasarkan ayat diatas, sangat jelas bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya dan bersifat umum, mencakup segala penyakit dan segala macam obat. Karena sesungguhnya Allah telah menyiapkan segala macam obat untuk menyembuhkan penyakit, baik penyakit ringan maupun penyakit berat. Salah satu contohnya adalah pemanfaatan *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. untuk dapat menaggulangi penyakit yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. Namun, manusia harus tetap berikhtiar untuk menemukan obat yang dapat menyembuhkan penyakitnya. Sesuai sabda Rasulullah ﷺ

*“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.” (HR.Ahmad 1/337),413 dan 453. Dan hadits ini dishahihkan dalam Ash-Shahihah no.451).*

Hadits diatas sangat jelas menerangkan bahwa sesungguhnya penyakit yang diturunkan oleh Allah selalu ada obatnya. Namun, manusia harus tetap berikhtiar untuk menemukan obat yang dapat menyembuhkan penyakitnya karena Allah telah menciptakan berbagai macam obat.

Kadar Hambat Minimum (KHM) yaitu kadar terkecil suatu sampel yang mampu menghambat pertumbuhan jamur yang ditandai dengan kejernihan pada tabung. Kadar Hambat Minimum ditentukan dengan membandingkan kejernihan antara larutan uji dengan kontrol.

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. yaitu dengan beberapa konsentrasi 0,390% ; 0,780% ; 1,56% ; 3,13% ; 6,25% ; 12,50% ; 25% ; dan 50%. Konsentrasi ini didapat melalui hasil eksplorasi (uji pendahuluan).

Rentang konsentrasi yang kecil digunakan untuk dapat menentukan KBM yang lebih tepat dan untuk mendapatkan persamaan yang lebih regresi.

Tingkat kekeruhan kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. diamati untuk menentukan KHM. Uji dilusi tabung dengan konsentrasi 0,390% ; 0,780% ; 1,56% ; 3,13% ; 6,25% ; 12,50% ; 25% ; 50% ; kontrol mikroba dan kontrol bahan dapat dilihat pada Lampiran 5.

Untuk menentukan uji penegasan pada uji KHM ( Konsentrasi Hambat Minimum) dilakukan penggoresan pada SDA (*Sabouraud Dextrosa Agar*) untuk mengamati pertumbuhan koloni *Candida albicans*, sehingga nilai KHM secara kuantitatif dapat diketahui dengan berkurangnya pertumbuhan koloni yang erthanam pada tiap konsentrasi. Sehingga dari uji penegasan nilai KHM dapat diketahui penghambatan jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang mempunyai jumlah koloni terkecil.

Pada penelitian lain dengan menggunakan ekstrak gel lidah buaya terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) oleh Rahmawati (2010) didapatkan konsentrasi larutan 0,3% ; 0,35% ; 0,4% ; 0,45% ; 0,5%  $\frac{v}{v}$  dengan KHM yang tidak dapat ditentukan serta penelitian yang dilakukan oleh Cintasa (2011) dengan menggunakan ekstrak gel lidah buaya terhadap *Klebsiella pneumonia* didapatkan konsentrasi larutan 0% ; 20% ; 22,5% ; 25% ; 27,5% ; dan 30%  $\frac{v}{v}$  KHM juga tidak dapat ditentukan. Hal ini membuktikan bahwa penelitian ekstrak gel lidah buaya, tidak dapat ditentukan KHM dengan akurat untuk bakteri Gram positif dan Gram negatif. Adapun yang dilakukan pada penelitian ini dengan penelitian

yang dilakukan oleh Rahmawati dan Cintasa menggunakan metode dilusi tabung, agar KHM dapat dibaca dan dapat digunakan metode dilusi agar.

Berikut hasil dari pengamatan secara kualitatif yang dihasilkan pada uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari Kombinasi Ekstrak Air pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.5** Hasil Pengamatan Kualitatif Uji KHM Kombinasi Ekstrak Air Terhadap *Candida albicans*

Konsentrasi	Kombinasi 1	Kombinasi 2	Kombinasi 3
Kontrol mikroba	+	+	+
0,390 %	++	++	++
0,780 %	++	++	++
1,56 %	+++	+++	+++
3,13 %	++++	++++	++++
6,25 %	++++	++++	++++
12,50 %	++++	++++	++++
25 %	++++	++++	++++
50 %	++++	++++	++++
Kontrol bahan	++++	++++	++++

Keterangan : sangat keruh : +  
keruh : ++  
agak keruh : +++  
jernih : ++++

Berdasarkan Tabel 4.5 diatas menunjukkan bahwa pada penelitian ini digunakan macam konsentrasi kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. yaitu 0,390% ; 0,780% ; 1,56% ; 3,13% ; 6,25% ; 12,50% ; 25% ; dan 50% kontrol jamur (kontrol mikroba) dan kontrol bahan ekstrak. KHM (Kadar Hambat Minimal) adalah kadar terendah dari antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan pada jamur (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasi selama 18-24 jam (Dzen *et al.*, 2003).

Kadar Hambat Minimal pada kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. terhadap pertumbuhan jamur *Candida*

*albicans* dapat ditentukan dengan melihat perubahan tingkat kekeruhan yang dibandingkan dengan kontrol kuman (*Candida albicans*) dalam berbagai konsentrasi yang digunakan. Secara kualitatif dapat dilihat dari batas antara konsentrasi yang masih terdapat pertumbuhan jamur (agak keruh) dengan yang sudah tidak terdapat pertumbuhan jamur (jernih). Hal ini dapat dilihat di Lampiran 5. Dari tabel diatas dilihat bahwa batas tersebut adalah pada konsentrasi 1,56 % dan 3,13 %. Untuk mengetahui perbandingan jumlah koloni yang tumbuh dan yang mempunyai nilai hambat pada tiap konsentrasi dilakukan uji penegasan dengan menanam hasil positif yang mempunyai nilai KHM ke media Agar (Dzen *et al.*, 2003).

Pada konsentrasi 1,56 % masih terdapat pertumbuhan jamur yang ditandai dengan koloni menonjol pada permukaan medium, permukaan koloni halus, licin, berwarna putih kekuningan (krem) pada media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*). Sedangkan pada konsentrasi 3,13 % tidak terdapat pertumbuhan jamur pada media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) yang menunjukkan bahwa terjadi penghambatan pertumbuhan *Candida albicans*. Sehingga diperoleh nilai KHM yang sebenarnya adalah pada konsentrasi 1,56 % karena pada konsentrasi ini sudah terjadi penghambatan. Hasil dari penanaman pada media SDA dapat dilihat pada Lampiran 5.

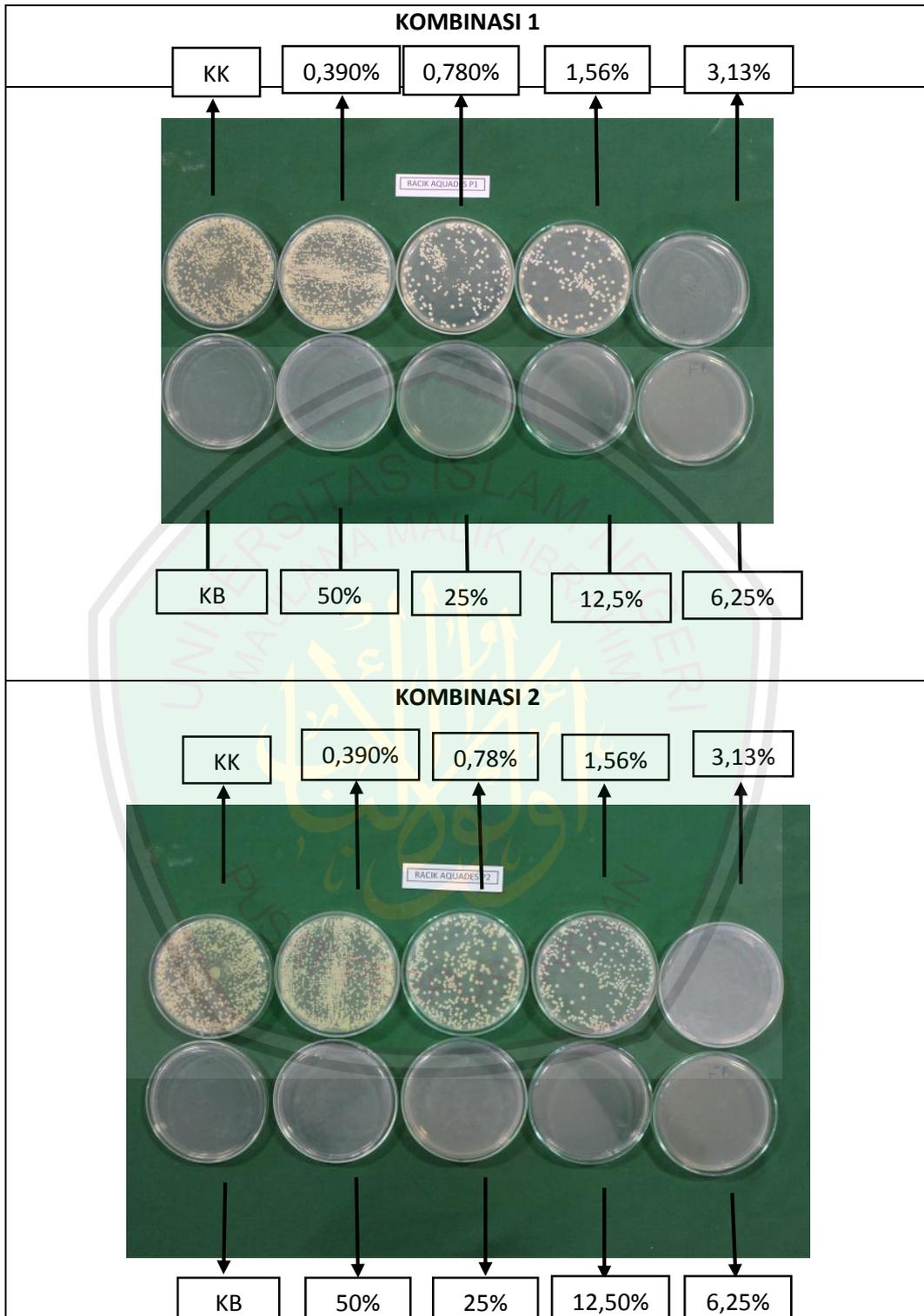
Menurut Bailey & Scott's (1994), KHM merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan kuman atau mencegah terjadinya multiplikasi kuman bukan membunuh kuman. Dengan penjelasan ini dapat dinyatakan bahwa nilai KHM terletak pada konsentrasi terakhir yang masih

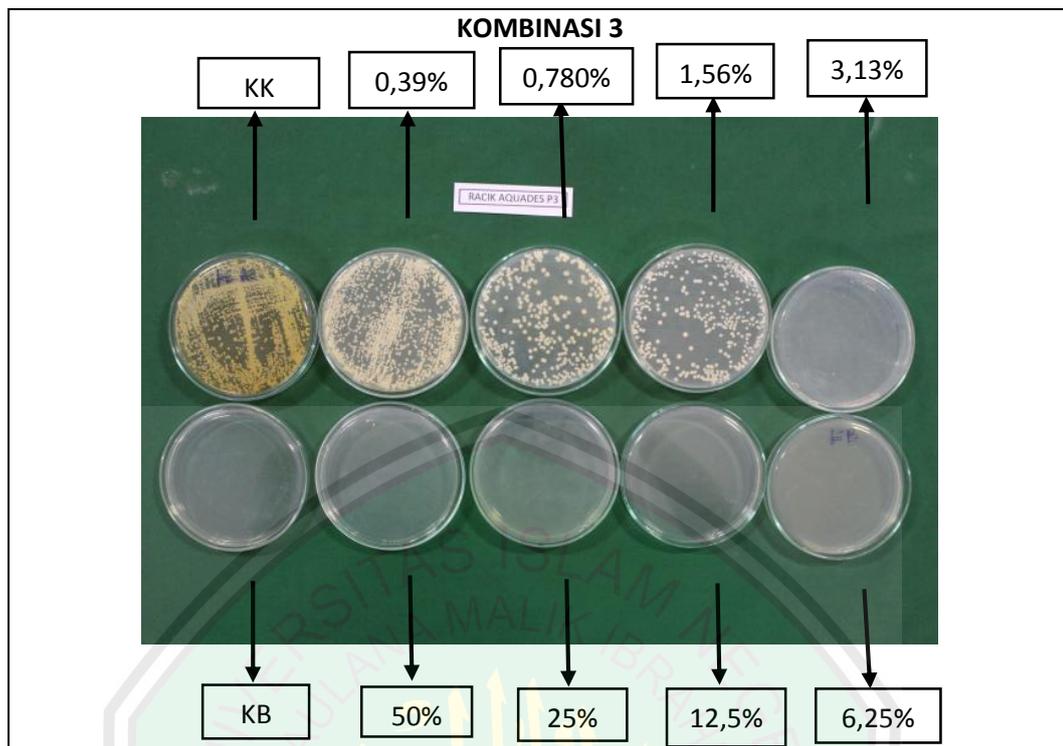
terdapat pertumbuhan kuman sebelum konsentrasi yang sudah tidak terdapat pertumbuhan kuman. Jadi nilai KHM pada kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah konsentrasi 1,56 %.

#### **4.5 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.**

KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) yaitu kadar terendah dari antimikroba yang dapat membunuh jamur (ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada medium SDA) atau pertumbuhan kuman koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum/OI*) pada medium SDA yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (Dzen et al., 2003). Hasil penggoresan / streaking pada medium SDA dapat dilihat pada Lampiran 5. Koloni inokulum yang digunakan dalam penelitian adalah inokulum yang setelah diinkubasi.

Dari hasil pengujian KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) yang telah dilakukan, maka perlu dilanjutkan dengan uji KBM. Hasil koloni yang terbentuk pada konsentrasi yang ditumbuhi koloni pada uji KHM dapat dihitung nilai KBM dengan ketentuan bahwa dengan penentuan nilai KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni jamur. Berdasarkan uji KHM yang telah dilakukan maka dapat diketahui hasil dari konsentasi KBM terhadap *Candida albicans* pada Gambar 4.2 berikut :





**Gambar 4.2** Hasil Uji KBM dari Kombinasi Ekstrak Air pada media SDA

Dari uji lanjutan yang menunjukkan adanya nilai KHM pada media uji, ditanam pada media SDA dengan cara *pour plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Nilai KBM dapat ditentukan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur *Candida albicans* dalam media SDA. Sehingga hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.6 berikut :

**Tabel 4.6** Hasil uji KBM Kombinasi Ekstrak Air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.

Konsentrasi	Kombinasi K1	Kombinasi K2	Kombinasi K3
Kontrol mikroba	$1,23 \times 10^{10}$	$1,23 \times 10^{10}$	$1,23 \times 10^{10}$
0,390 %	$4,59 \times 10^{11}$	$3,66 \times 10^{11}$	$2,03 \times 10^{11}$
0,780 %	$1,45 \times 10^{11}$	$1,45 \times 10^{11}$	$1,44 \times 10^{11}$
1,56 %	$4,01 \times 10^{-6}$	$7,2 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-5}$
3,13 %	0	0	0
6,25 %	0	0	0
12,50 %	0	0	0
25 %	0	0	0
50 %	0	0	0
Kontrol bahan	0	0	0

Berdasarkan hasil yang tertera dalam Tabel 4.6 disebutkan konsentrasi yang mempunyai nilai bunuh minimum yaitu konsentrasi 3,13% ; 6,25% ; 12,50% ; 25% ; 50% ; dan kontrol bahan. Hasil ini diduga dikarenakan semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin besar dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri dan dapat bereaksi dengan cara inaktivasi fungsi dari material genetik (Branen, 1993).

Berdasarkan hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah koloni jumlah jamur *Candida albicans* seiring dengan peningkatan konsentrasi kombinasi ekstrak air *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. perlakuan yang diperkuat dengan data kandungan bahan aktif ekstrak *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. yang mampu membunuh pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 3,13% ; 6,25% ; 12,50% ; 25% ; 50% ; dan kontrol bahan, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak kombinasi terbukti sensitif sebagai antijamur terhadap jamur *Candida albicans*. Hal ini dapat menunjukkan bahwa hipotesis penelitian terbukti.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pada kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. mempunyai aktivitas antioksidan. Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> dapat diketahui bahwa dalam tiap kombinasi 1, 2 dan 3 secara berurutan sebesar 202.7 ppm; 431.9 ppm; dan 420.9 ppm. Dari ketiga kombinasi yang mempunyai potensi antioksidan terbaik yaitu pada kombinasi 1 (K1).
2. Pada kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. mempunyai aktivitas antifungi. Dari ketiga kombinasi (1, 2 dan 3) konsentrasi yang mempunyai nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) yaitu pada konsentrasi 1,56%. Sedangkan nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM) kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. terletak pada konsentrasi 3,13%. Dari ketiga kombinasi yang mempunyai potensi antifungi terbaik dari ketiga kombinasi terletak pada kombinasi 3 (K3).

## 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji autobiografi untuk mengetahui senyawa yang lebih spesifik dari kombinasi pada *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. sebagai zat antioksidan dan antifungi pada pelarut air.
2. Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan mikroorganisme yang lain, sehingga dapat mempertegas bahwa tumbuhan *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. mempunyai kemampuan sebagai zat antioksidan dan antifungi.
3. Perlu dilakukan penelitian yang sejenis dan menggunakan pelarut aquades yang dipanaskan agar dapat dibandingkan pada penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L., *Bioscientie*, Vol.1.No.1: 31-8
- Anonim. 2010. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Jakarta
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Edisi IV. Jakarta : Universitas Indonesia Press
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis the Association*. 15<sup>th</sup> . Ed. AOAC. Virginia :AOAC Inc. Arlington
- Arindah, D. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (*Solonum muricatum* aiton) yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Skripsi Tidak diterbitkan*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H.P. dan Bast, A. 2004. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 42. No. 45-49
- Arisandi, Yohana dan Andriani, Yovita. 2008. *Khasiat Tanaman Obat*. Jakarta : Pustaka Buku Murah
- Aryanti, D., Nurhayati, T. dan Nurjanah. 2009. Kajian Awal Potensi Ekstrak Spon Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kelautan Nasional*. Vol.2. Edisi Januari. Hal 43-51. Bandung : Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB
- Asih I. A.R Astiti dan Setiawan I. M. A. 2010. *Senyawa Golongan Flavonoid Dari daun Sirih Merah (Piper betle L. var Rubrum)*. *Skripsi Tidak diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
- Azzahra, Velayaty 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 Tidak diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
- Backer and Van den Brink. 1965. *Flora of Java*. Vol. 1. Wolters-Noordhoff. NV-Gronongen. The Netherlands. Hal : 232-238
- Bailey & Scott's. 1994. *Diagnostic Microbiology*. Missouri : Mosby
- Baraja, M. 2008. *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus elastic Nois ex Blume terhadap (Artemia salina Leach) dan profil Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi. Diterbitkan. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Barnes, J., Anderson, L.A and Phillipson, J.D. 2007. *Herbal Medicines*, 3<sup>th</sup> ed. London : Pharmaceutical Press
- Bermawie, N., Hernani, Sujiwo P., and kardonno, L.B.S. 2005. *Approaches For Sustainable Utilization of Biodiversity of Medical and Aromatic Plants in Indonesia*. <http://dbp.gov.my/mab2005>
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical, *Nature* 181, 199-1200
- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse, S.A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, and Adelberg*. 23<sup>th</sup> edition. Jakarta :EGC
- Cintasa. 2011. Pengaruh Ekstrak Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia* Secara In Vitro. Tugas Akhir. Pendidikan Dokter. Universitas Brawijaya
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia Univ. Press
- Darmadi, Agus., Pudji, Umi Astuti., Wahyuni, Tri., Honorita, Bunaiyah. 2013. *Petunjuk Teknis Pembuatan Pestisida Nabati*. Bengkulu: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian
- Day dan Underwood. 1999. *Analisis Kimia Kualitatif*. Jakarta: Erlangga
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta

- Dorly. 2005. *Potensi Tumbuhan Obat Indonesia Dalam Pengembangan Industri Agromedisin*. Makalah : Pengantar Falsafah Sains Sekolah Pasca Sarjana. ITB
- Dzen, M.R. 2003. *Bakteriologi Medic Edisi Pertama*. Bayumedia Publishing : Malang
- Ebadi, M. 2006. *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine 2nd ed*. New York: Taylor dan Francis
- Effendi, Violetta Prisca dan Simon Bambang W. 2014. Distilasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) dengan Kajian Lama Waktu Distilasi dan rasio Bahan : Pelarut. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol.2. No.2
- Erdelen, W.R. 1999. Biodiversity, Traditional Medicine and The Sustainable Use of Indigenous Medicinal Plants in Indonesia. *Indegenous Knowledge Development Monitor*
- Evennett. 2006. *Tradisional preservatives-oil and spices*. *Encyclopedia of food*
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Farooqi. 2005. *Terapi Herbal Cara Islam*. Jakarta: Mizan Publik
- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oelh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta : Erlangga
- Ganiswara, T.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta : Farmakologi FK UI
- Gaware, V.M. Parjane, S.K.,N, M.A., Pattan, S.R., dan Dighe, N.S. 2009. *Female infertility and its treatment by alternative medicine : A reviewer*
- Gebreyohannes, G., 2013. Fate of  $\beta$ -asarone in Ayurvedic Sodhana process of Vacha. *J ayurveda Integr Med Reid*
- Giang, H. 2010. Uji Daya Hambat Ekstrak Karang Lunak (Octocorallia: Alcyonacea) Jenis *Sinularia* spp Terhadap *Candida albicans* Dari Kepulauan Spermonde, Kota Makasar. *Skripsi*. Makasar. Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan Universitas Hasanuddin
- Gordon, M.H. 1990. "The Mechanisme of Antioxidants Action in Vitro", editor: B.J.F. Hudson, *Food Antioxidants*. London. Elvisier Applied Science.

- Gritter, R. J., J. M. Bobbits, and A. E. Schwarting. 1987. *Introduction to Chromatography (Pengantar Kromatografi) Edisi ke-2*. Diterjemahkan K. Padmawinata. Bandung: ITB
- Guyton & Hall. 2002. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.pp.14-7
- Halliwell, B. dan Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford University Press. Vol. 23-31. No. 105-115
- Hanani. E, Mun'im. A, Sekarini.R. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspongia sp dari Kepulauan Seribu*. Depok : Departemen Farmasi, FMIPA-UI.
- Handayani, L., 2001. Pemanfaatan obat tradisional dalam menangani masalah kesehatan. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Vol.51, No.4. Hal: 139
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan*. Terjemahan Padmawinata. K. Bandung: Penerbit ITB
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia*. Bandung : Institut Teknologi Bandung
- Hardiningtyas, S.D. 2009. *Aktivitas Antibakteri ekstrak Karang Lunak Sarcophyton sp. yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan seribu*. Bogor :ITB
- Hargono, J. 1986. *Efek samping obat dari bahan alam lebih kecil daripada efek samping obat kimia murni*. Cermin Dunia Farmasi
- Hariana, 2006. *Tanaman Obat*. Jakarta: Rineka Cipta
- Haris, A., Arniati, M., Sulaiman, G., and Benny., A. 2012. Potensi Antimikroba Dan Toksisitas Ekstrak Lamun Dan Bakteri Simbiannya Dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar. *Laporan Akhir*. Lembaga Penelitian Universitas Hasanuddin. Makassar
- Hartati, Sri, Atiek Soemiati dan Eka Irmawati A. 2012b. Isolasi  $\beta$ -asaron dari Rimpang Dringo (*Acorus calamus* Linn.) Serta Uji Aktivitas Antimikroba. *Jurnal Bahan Alam Indonesia ISSN 1412-2855 Vol. 8, No. 2, Mei, h. 85*
- Haryanto, Sugeng. 2010. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta: Palmall

- Haryati, Suci Amiruddin. 2014. Daya Hambat Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Pertumbuha *Streptococcus mutans* secara *In Vitro*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Makassar: Universitas Hasanuddin
- Harmanto, Ning. 2006. *Herbal dan Jamu (Pengaruh dan Efek Sampingnya)*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo
- Hasan, Mahir Mahmud.2007. *Mukjizat Kedokteran Nabi*. Jakarta : Qultum Media
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. *Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dengan Metode Difusi Disk*. Surabaya: Universitas Erlangga
- Hugo, W. B dan Russel, A.D. 1987. *Pharmaceutical Microbiology*. Oxford: Blackwel Scientific
- Husnah, M. 2004. Identifikasi Dan Uji Antioksidan Golongan Senyawa Antioksidan Ekstrak Kasar Buah Pepino (*Solanum muricatum* Aiton) Berdasarkan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Imai, J., N. Ide, S. Nagae, T. Morigachi. 1994. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract. *Planta Medica*
- Imani, A.K.Q. 2005. *Tafsir Nurul Quran Sebuah Tafsir Sederhana Menuju Cahaya Al-Qur'an*. Penerjemah Salman Nano. Jakarta: Penerbit Al-Huda
- Iskandar, Jusman. 1994. *Pengembangan Masyarakat*. Bandung: STKS Press
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E.P. (2011). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Dyospyros kaki* Thumb.) Dengan Metode DPPH (2,2- Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. 16(3), 157-164.
- Jawetz, E.A. Adelberg. 1986. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Profesi Kesehatan diterjemahkan oleh Gerard Bonang*. Jakarta : CV, EGC
- Jawetz, E.A dan Adelberg. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran diterjemahkan oleh Edi Nugroho dan Maulany*. Jakarta : CV.EGC

- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiologi)*. Jakarta : Salemba Medika
- Kardinan, Agus. 2003. *Tanaman Obat Penggempur Kanker*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Karnila, R. 2011. Analisis Kandungan Nutrisi Daging Dan Tepung Teripang Pasir (*Holothurian scabra* J.) Segar. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Riau : Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Riau
- Kartasapoetra. 1992. *Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: Bumi Aksara
- Kemper, K.J. 2000. Garlic (*Allium sativum*). Longwood Herbal Task Force. <http://www.mep.edu/herbal/default.htm>. (Diakses pada tanggal 19 November 2013)
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak Dan Lemak Pangan*. Jakarta : UI Press
- Khan, M.R. and A.D. Omoloso. 1998. *Momordica carantina and Allium sativum: broadspectrum antibacterial activity*. Kor. J. Pharmagon. 29 : 155-158
- Khopkar, S.M. 2005. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Terjemahan A. Saptorahardjo. Jakarta: UI Press
- Kristanti, A, N., Aminah, N,S., Tanjung, M dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya : Airlangga University Press
- Kusmayati dan Agustini, N. W. R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1) : 48-53
- Kusumaningtyas, E. 2009. Mekanisme Infeksi *Candida albicans* Pada Permukaan Sel. *Jurnal*. Lokakarya Nasional Penyakit Zoonis. Balai Penelitian Veteriner. Bogor
- Mahrani, Jamaluddin. 2006. *Al-Qur'an Bertutur Tentang Makanan dan Obat-Obatan*. Yogyakarta: Mitra Pustaka
- Mardawati, E. 2008. *Kajian Aktivitas Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya*. Bandung: Jurusan Teknolgi Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran

- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB
- Marsh, S. 1977. The Selective Capsaicin Antagonistcapsazepine Abolishes The Antinociceptive Action Of Eugenol And Guaiacol. *Journal Dental Research*. 76:848-851
- McKane, L., and J. Kandel. 1996. *Microbiology: Essentials and Applications*, 396-398. New York : Mc Graw Hill Inc
- Molyneux, P., 2003. *The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), For Estimasing Antioxidant Activity*, *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 2004, 24(2) : 211-219
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhidrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanarin Journal Of Science Technology*.26(2):211-219
- Nugroho, 2003. *Antioksidan*. Nugroho. Wordpress.com. diakses pada tanggal
- Nurhayati, T, dkk. 2006. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (Alpinia galangal L. Wild)*. Semarang: Jurusan Kimia Universitas Diponegoro
- Nurswida, I. 2002. *Efektivitas Dekok Sirih Hijau dan Sirih Kuning Dalam Menghambat Pertumbuhan Candida albicans (uji In Vitro)*. Skripsi Tidak Diterbitkan : Malang: Universitas Brawijaya
- Padua, L.S., Bunyaphatsara, N and Lemmens, R.H.M.J. 1999. *Plant Resources of South-East Asia*. 12(1):81-85. Prosea, Bogor
- Pakasi, Sandra E. dan Christina. L. Salaki. 2013. *Budidaya yang Baik Tanaman Karumenga (Acorus calamus)*. Sam Ratulangi: Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi
- Patil, D. D., Mhaske, D.K., & Wadhawa, G.C. 2011. Antibacterial And Antioxidant Study Of *Ocimum basilicum* Labiatae (Sweet Basil). *Journal Of Advanced Pharmacy Education & Research*. ISSN : 2249-3379. Vol.2 : 104-112
- Pfaller, M. A., Diekema, D. J. 2007. Epidemiology of invasive candidiasis: persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*;20:13363
- Pokorni. 2001. *Antioxidant in Food : practical application*. New York: CRC Press

- Prakash, a, Rigelhof, F dan Miller, E. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories Analytical Progress, Vol .10, No. 2
- Pratiwi, D.P. dan Harapini M. 2006. Nilai Peroksida Dan Antioksidan Anti Radial Bebas Diphenyl Picril Hydrazil Hydrate (DPPH) Ekstrak Methanol Knema Laurina. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17:32-6
- Pratiwi, Sylvania T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Pratt, D.E. 1990. *Natural Antioxidant From Plant Material*. Editor : M.T Huang, C.T. Ho Dan C.Y . Lee. Phenolic Compounds In Food And Their Effects On Health Human America Society. Washington DC
- Priadi, Andang. 2004. *Budi Daya Daun Dewa Tanaman Berkhasiat Obat*. Yogyakarta: Kanisius
- Purwadaksi, R. 2007. *Memfaatkan Pekarangan Untuk Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Agro Media Pustaka
- Rahayu, D.S, dkk. 2010. *Penentuan Aktivitas Penangkap Radikal Buah (Carica papaya L.) dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenolik serta Flavonoid Totalnya*. Skripsi Tidak diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah
- Rahman E.F. 2010. Efektivitas Ekstrak Daun Dewa (*Gynarupseudochina* (Lous) DC) Terhadap *Candida albicans* .
- Reid V, Oliver MM. 2012. Postpartum Depression in Adolescent Mothers : An Integrative Review of the Literature. *Journal of Pediatric Health Care*
- Rita, W.S., I. W. Suirta dan A. Sabirin. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi Sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (Momordica carantia L.)*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Udayana. *Jurnal Kimia* 2(1). ISSN 1907-9850: 1-6
- Rita, W.S. 2010. *Isolasi Identifikasi Dan Uji Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoaria (Berg) Roscoe)*. Bali : Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. *Jurnal Kimia* 4(1), Januari 2010:20-26

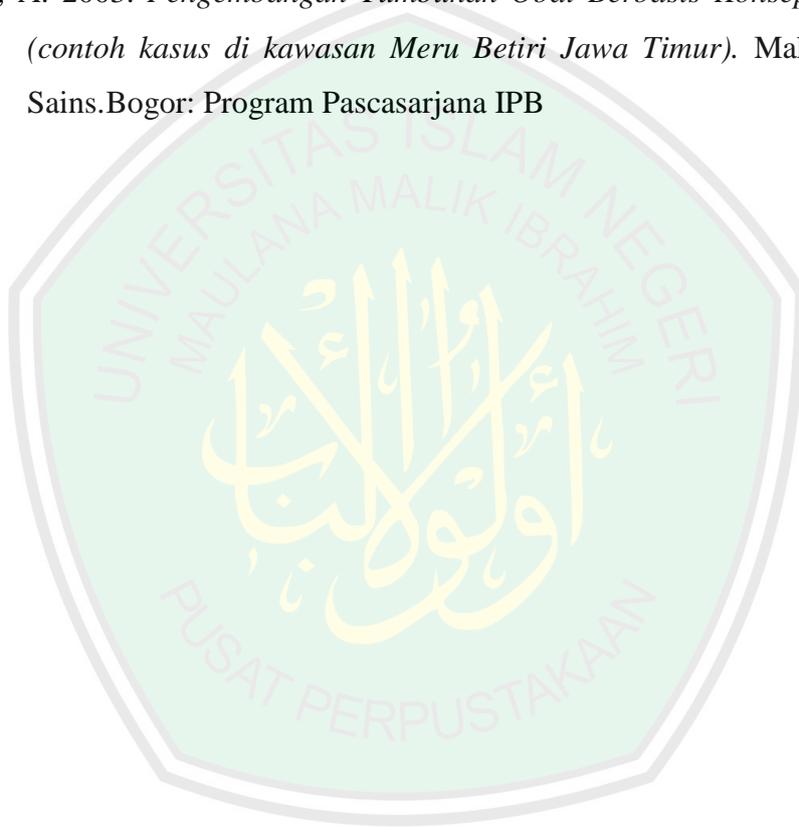
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Bandung : Penerbit ITB
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan Oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung : ITB
- Rochani, N. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Surabaya : Fakultas Farmasi UMS Surakarta
- Rohman, A dan Riyanto, S. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) Secara In-Vitro. Yogyakarta: Laboratorium Kimia Analisis Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. *Majalah Farmasi Indonesia*, 16(3), 136-140
- Rohman, A dan Gandjar I.G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- Rohman, A. 2009. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Roupa, Z., Polikandrioti, M., Sotiropoulou, P., Faros, E., Koulouri, A., Wozniak, G., dan Gourni, M. 2009. *Causes Of Infertility In Women At Reproductive Age*
- Rusdi. 1998. *Tumbuhan sebagai Sumber Obat*. Padang . Pusat Penelitian Andalas
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigon asp. Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in-vitro). Online. [http://www.journal.unair.ac.id/detail\\_jurnal.php?id=653&med=2&bid=3,id.](http://www.journal.unair.ac.id/detail_jurnal.php?id=653&med=2&bid=3,id.) Diunduh pada tanggal 19 September 2014.
- Sa'roni, Adjirni, Pudjiastuti. 2002. Efek Analgetik dan Toksisitas Akut Ekstrak Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) pada Hewan Coba. *Media Litbang Kesehatan Vol. XII, No. 3, h. 46*
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty
- Savitri, Evika Sandi. 2008. *Khasiat Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Malang Press

- Setiabudy, R. & Bahry, B. 2007. *Farmakologi Dan Terapi :Obat Jamur*. Edisi 5. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Pp. 571-84
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir al-mishbah*. Jakarta: Lentera Hati
- Silalahi, J. 2006. Antioksidan dalam Diet dan Karsinogenesis. *Cermin Dunia Kedokteran*, 153:39-42
- Siregar, R.S. 2005. *Atlas Berwarna Saripati Penyakit Kulit : Kandidiasis*. Edisi 2. Jakarta : EGC. Pp. 31-5
- Siswandono & soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*. Surabaya : Airlangga University Press
- Suganda, A.G. et al., 2003. Aktivitas Antibakteri dan Antifungi Ekstrak Etanol Daun *Alamanda cathartica* L. dan *Alamanda neriifolia* hook. Bandung : Departemen Farmasi FMIPA-ITB. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* ISSN 1412-2285 Vol.2. No.3
- Sukadana, I.M. 2007. *Isolasi dan Identifikasi senyawa Antimakan dari Batang Tumbuhan Brotowali (Tinospora tuberculata BEUMEE)*. Bali: Jurusan Kimia FMIPA universitas Udayana Bukit Jimbaran. ISSN 1907-9850
- Sundari D. dan Winarso M.W. informasi tumbuhan obat sebagai antijamur . <http://www.kalbe.co.id/files/11InformasiTumbuhanObatsebagaiAntiJamur130.pdf/11InformasiTumbuhanObatsebagaiAntiJamur130.html>. 2001. Diunduh 20 Oktober 2010
- Suriana, Neti. 2011. *Bawang Bawang Untung Budi Daya Bawang Merah Dan Bawang Putih*. Yogyakarta : Cahaya Atma Pustaka
- Suroso, B. C. H. 2007. Uji Antioksidan Dan Identifikasi Senyawa Aktif Pada Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang:Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Suroso, H.C. 2011. Uji Antioksidan Dan Identifikasi Senyawa Aktif Pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha hispida* L.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

- Suryadi. 2012. Skrining Fungi Simbion Dari Alga Hijau *Ulva reticulata* Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Makassar. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
- Tampubolon, Lamtiur H. 2000. *Tanaman Obat Keluarga Pengobatan Alternatif*. Jakarta: Tim Yayasan Masyarakat Sehat Wahyu Suprpto
- Thomas, A.N.S. 1991. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Kanisius
- Thomson, R.H. 1993. *The Chemistry Of Natural Products*. 2 Edition, Chapman And Hall Ltd.Glasgow, UK
- Tjampakasari, C.R. 2006. Karakteristik *Candida albicans*. Cermin Dunia [http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/13\\_151\\_KarakteristikBologikCandida albicans.pdf/13\\_151\\_ Diakses pada ta 23 November 2007](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/13_151_KarakteristikBologikCandida%20albicans.pdf/13_151_Diakses%20pada%20ta%2023%20November%202007)
- Tjay, T.H Rahardja.K. 1978. *Obat-Obat Penting Khasiat Penggunaan Dan Efek-Efek Sampingnya* . Edisi Kelima, Jakarta. PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia
- Tajy, T.H. And Rahardja, K. 2003. *Obat-Obat Penting*. 5<sup>th</sup> . Penerbit PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia. Jakarta. 91-104
- Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L.,. 2001. *Microbiology An Introduction, 7th ed.* San Francisco: Benjamin Cummings
- Trifani. 2012. Ekstraksi pelarut cair-cair.<http://awjee.blog.com/2012/11/24/ekstraks-pelarut-cair-cair/>. Diakses pada tanggal 8 September 2015
- Voight, R., 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, N, S., Yogyakarta : Gajahmada University Press
- Volk, W.A dam Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar Edisi Lima*. Alih Bahasa: Markhan. Jakarta: Erlangga
- Wafa, J.A. 2012. Penentuan Kapasitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kasar Teripang Pasir (Holothurian Scabra) Dari Pantai Kenejeran Surabaya. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

- Wahyuni, S. 2009. Pengaruh Konsentrasi Sari Daun Dambir Dan Daun Tembakau Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans* Penyebab Sariawan. *Skripsi*. Sumatera Barat :STKIP PGRI PADANG
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press : Malang
- Warsinah, Eka Kusumawati, Sunarto. 2011. Identifikasi Senyawa Antifungi Dari Kulit Batang Kecapi (*Sandoricum koetjape*) Dan Aktivitasnya Terhadap *Candida albicans*. *Majalah Obat Tradisional*
- Widawati, M dan I, Almierza. 2012. Analisis Pengaruh Ekstrak Non-Polar Batang Pohon Tanjung (*Mimusops elengi*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Aspirator*. Vol.4. No. 2 (Hal 59-63)
- Widiyati, Eni. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien*. Vol.2. No. 1 (Hal 116-122)
- Widodo, N. 2007. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Yang Terkandung Dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Semarang : Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan Dan Gizi*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius
- Winarsih, Rita dan Irisda. 2013. Hambatan Ekstrak Etanol Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Isolat Vagina 218 Sv Secara *In-Vitro*. *Jurnal Penelitian*. Laboratorium Anatomi FKUB, Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter FKUB.
- Yen, G.C. dan Chen, H.Y. 1995. Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *J. Agric. Food. Chem.* Hal 27-32
- Yin MC, Cheng WS,. 1998. Antioxidant activity of several Allium members. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4097–s4101
- Yudani, Tri. 2012. *Uji Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Pare (Momordica charantia) Terhadap Pertumbuhan bakteri Shigella dysenteriae Secara In-Vitro*. Malang : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

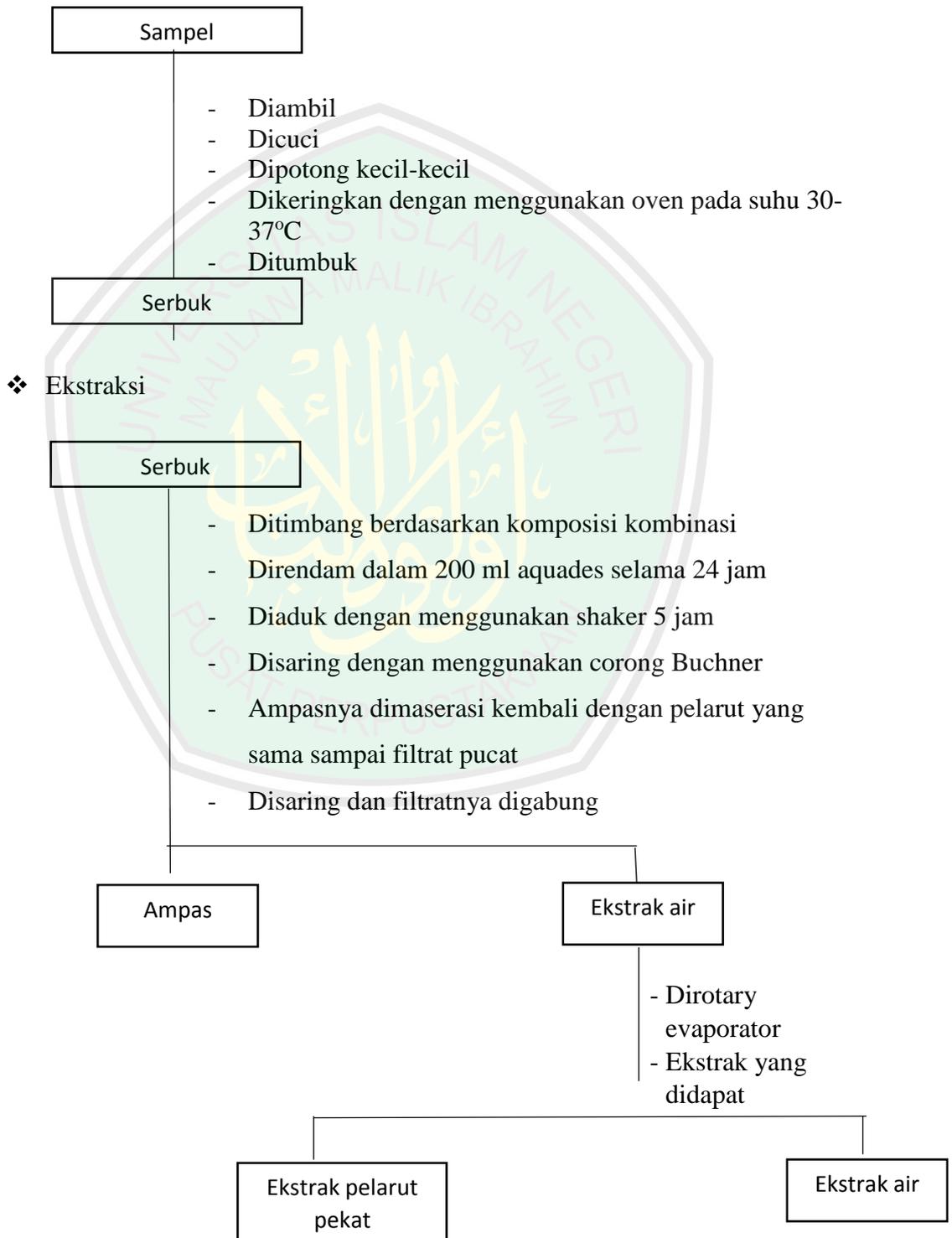
- Yuliani, D. 2010. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang : Jurusan Kimia UIN MALIKI Malang
- Yustina, S.H. 2008. Daya Antibacteria Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (*Foeniculum vulgare*. Mill) Dan Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reindwartii* BL). Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
- Zuhud, A. 2003. *Pengembangan Tumbuhan Obat Berbasis Konsep Bioregional (contoh kasus di kawasan Meru Betiri Jawa Timur)*. Makalah Filsafat Sains. Bogor: Program Pascasarjana IPB



## LAMPIRAN

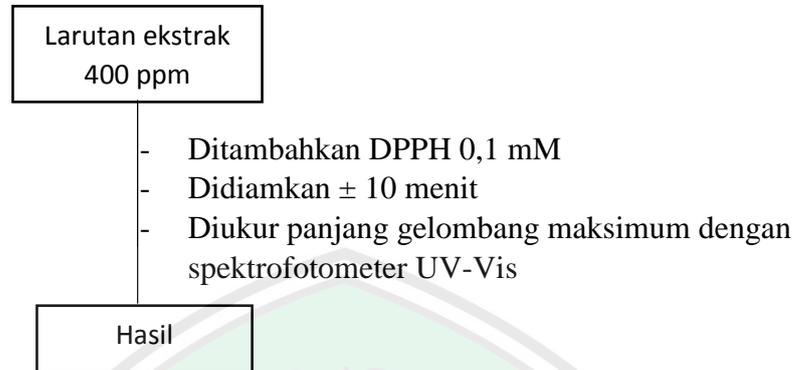
### Lampiran 1 Skema Kerja

- ❖ **Preparasi Sampel** (*Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* dan *Allium sativum* Linn.

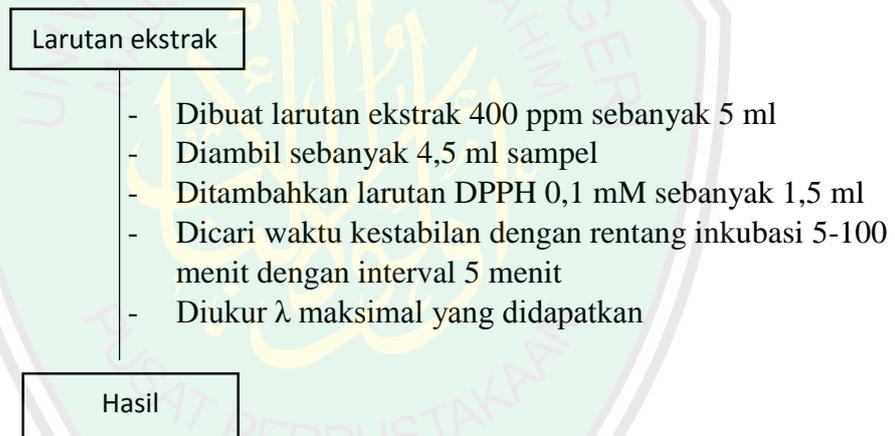


## ❖ Uji antioksidan dengan metode DPPH

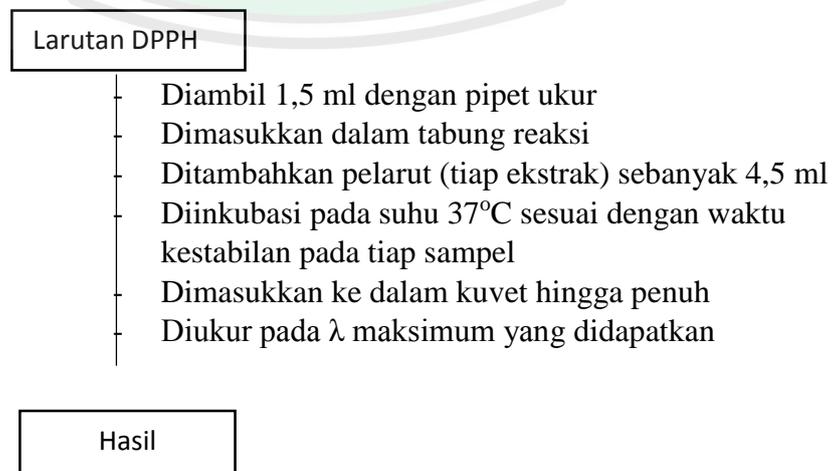
### 1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



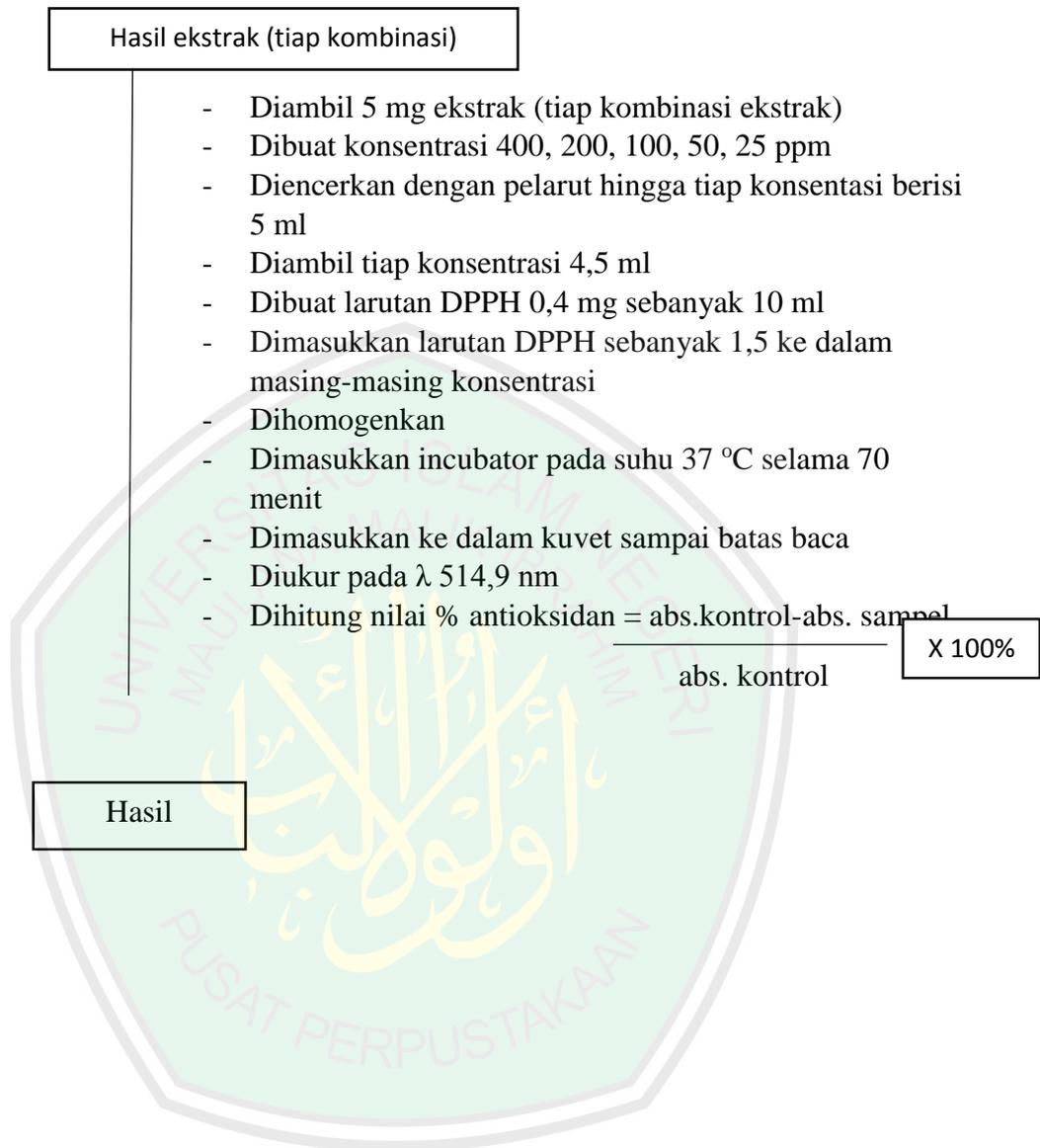
### 2. Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan



### 3. Penentuan absorbansi kontrol



#### 4. Penentuan absorbansi sampel



❖ Uji Aktivitas Antifungi kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.

1. Sterilisasi Alat

Alat

- Ditungkup dengan aluminium foil
- Dimasukkan dalam autoclave pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi
- Disterilkan selama 15 menit

HASIL

2. Pembuatan Media

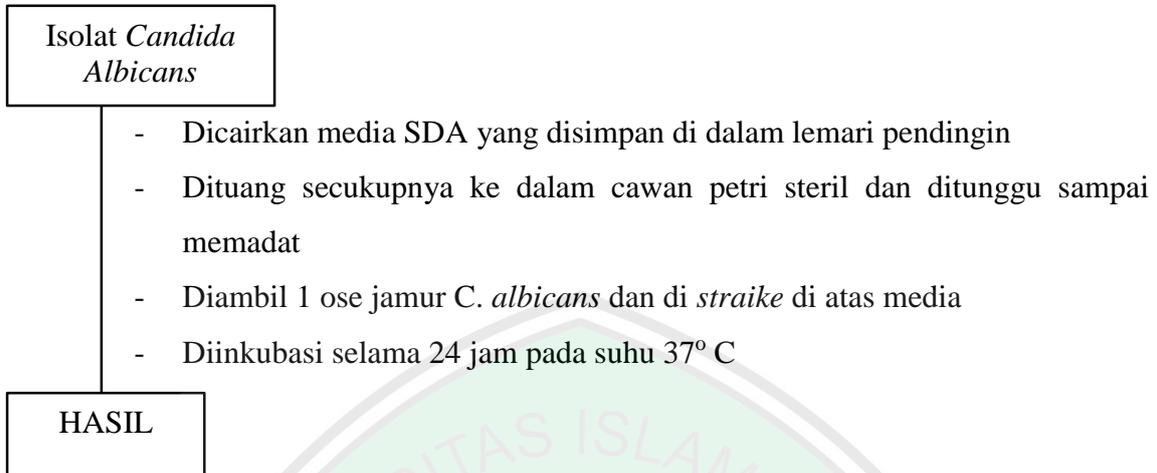
Saboraud Dekstrosa  
Agar (SDA)

- Ditimbang media SDA yang masih serbuk sebanyak 32,5 gram
- Dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer 500 mL steril
- Ditambahkan aquades steril 500 mL (65 gram SDA -> 1 liter aquades)
- Diaduk menggunakan spatula
- Dipanaskan di atas hot plate stirrer pada suhu 100-300 °C sampai mendidih
- Dibungkus plastik dan disterilisasi

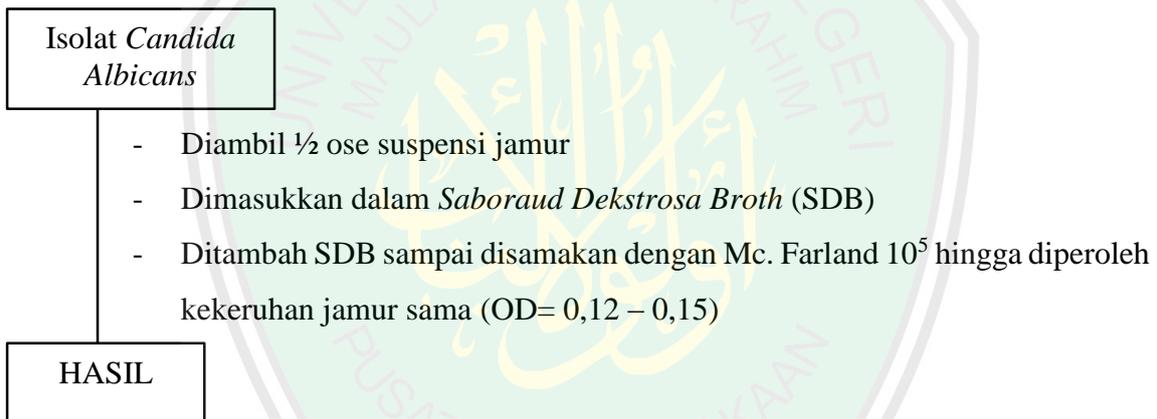
HASIL

### 3. Kultivasi Jamur *Candida albicans*

#### a. Regenerasi jamur *C. albicans*



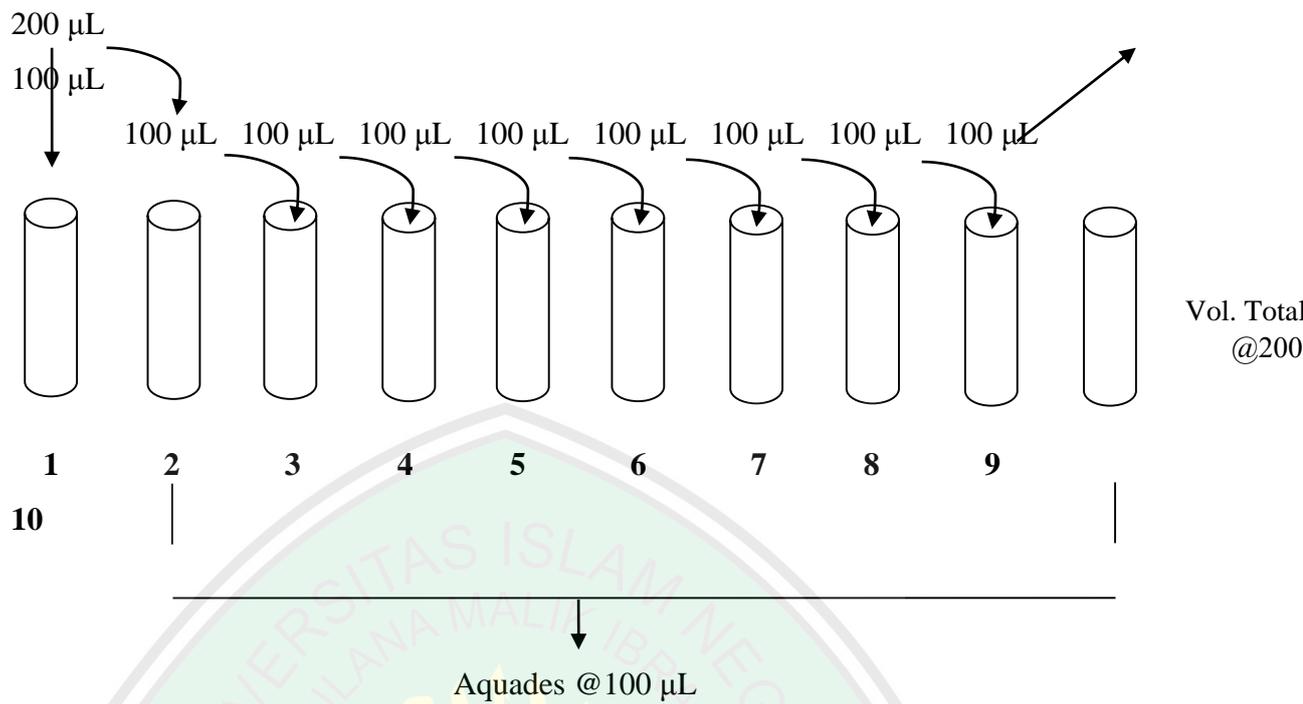
#### b. Pembuatan Suspensi *C. albicans* (Metode Mc. Farland)



#### 4. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

##### Larutan antifungi

- Diberi nomor 1 s/d 10 pada tabung steril yang disediakan (Keterangan: tabung no. 1 = kontrol bahan, tabung no. 2-9 = larutan antifungi (ekstrak uji), dan tabung no. 10 = kontrol kuman)
- Dibuat larutan antifungi dari ekstrak dengan konsentrasi 100 % (ditambah *emulsion fyer/Tween 80 %*)
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 200  $\mu\text{L}$  di tabung no. 1
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada tabung no. 2
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada tabung no. 3
- Dimasukkan aquades sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada tabung no. 3 sampai dengan tabung no. 10
- Dicampur (divortex) hingga rata tabung no. 3, kemudian diambil dan dipindahkan sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung no. 4
- Dicampur (divortex) hingga rata tabung no. 4, kemudian diambil dan dipindahkan sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung no. 5
- Dikerjakan hal yang sama terhadap tabung no. 5 s/d 9
- Pada tabung no. 9, setelah tercampur merata larutan dibuang sebanyak 100  $\mu\text{L}$
- Kemudian ditambahkan perbenihan cair kuman (jamur *Candida*  $10^6$  pada media SDB) sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung 2-10. Dengan demikian volume masing-masing tabung menjadi 200  $\mu\text{L}$ , sehingga konsentrasi akhir antifungi berubah.
- Dari pengenceran di atas, maka konsentrasi awal dari masing-masing tabung (antifungi) berubah menjadi seperti terlihat pada skema berikut:



Keterangan tabung:

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

- Diinkubasi semua tabung pada suhu 37 °C selama 18-24 jam
- Diperhatikan/dilihat dan dicatat pada tabung ke berapa tampak terjadi kekeruhan

HASIL

### 5. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Hasil KHM

- Ditanam isi tabung (0,1 mL) yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan (kekeruhan) pada medium SDA (tabung yang positif KHM)
- Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam
- Dihitung jumlah koloni pada setiap cawan

HASIL



## Lampiran 2 Perhitungan Hasil Rendemen Maserasi

### ❖ Kombinasi 1

$$\begin{aligned}
 \text{Berat botol kosong} &= 89,9428 \text{ g} \\
 \text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} &= 101,3057 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \\
 &\text{ekstrak pekat}) - \text{Berat botol kosong} \\
 &= 101,3057 \text{ g} - 89,9428 \text{ g} \\
 &= 11,3629 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{11,3629 \text{ g}}{100,02 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 11,3601\% \text{ (b/b)}
 \end{aligned}$$

### ❖ Kombinasi 2

$$\begin{aligned}
 \text{Berat botol kosong} &= 90,5691 \text{ g} \\
 \text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} &= 100,9541 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \\
 &\text{ekstrak pekat}) - \text{Berat botol kosong} \\
 &= 100,9541 \text{ g} - 90,5691 \text{ g} \\
 &= 10,3580 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{10,3580 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 10,358\% \text{ (b/b)}
 \end{aligned}$$

### ❖ Kombinasi 3

$$\begin{aligned}
 \text{Berat botol kosong} &= 89,1340 \text{ g} \\
 \text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} &= 97,1973 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \\
 &\text{ekstrak pekat}) - \text{Berat botol kosong} \\
 &= 97,1973 \text{ g} - 89,1340 \text{ g} \\
 &= 8,0633 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{8,0633 \text{ g}}{101,3 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 7,95982\% \text{ (b/b)}
 \end{aligned}$$

### Lampiran 3 Perhitungan Hasil Uji

#### ❖ Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM dalam 5 ml

DPPH 0,1 mM dalam 5 ml

$$\begin{aligned} \text{Mr DPPH} &= 394,33 \text{ g/mol} \\ &= 394,33 \text{ mg/mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Mol DPPH} &= 5 \text{ ml} \times 0,1 \text{ mM} \\ &= 5 \text{ ml} \times 0,1 \text{ mM} \end{aligned}$$

1000

$$= 0,0005 \text{ mmol}$$

$$\begin{aligned} \text{mg DPPH} &= 0,0005 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\ &= 0,0005 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ mg/mmol} \\ &= 0,197165 \text{ mg.} \end{aligned}$$

#### ❖ Pembuatan Larutan DPPH 0,1 Mm Dalam 10 MI

$$\begin{aligned} \text{Mr DPPH} &= 394,33 \text{ g/mol} \\ &= 394,33 \text{ mg/mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Mol DPPH} &= 10 \text{ ml} \times 0,1 \text{ mM} \\ &= 10 \text{ ml} \times 0,1 \text{ mM} \end{aligned}$$

1000

$$= 0,001 \text{ mmol}$$

$$\begin{aligned} \text{mg DPPH} &= 0,001 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ mg/mmol} \\ &= 0,39433 \text{ mg} \end{aligned}$$

#### ❖ Volume Ekstrak Kombinasi Yang Digunakan Pada Tiap Konsentrasi

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{5 \text{ ml} \times 25 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ ml}$$

$$V_2 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{5 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ ml}$$

$$V_3 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{5 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 1 \text{ ml}$$

$$V_4 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{5 \text{ ml} \times 200 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 2 \text{ ml}$$

$$V_5 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1} = \frac{5 \text{ ml} \times 400 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 4 \text{ ml}$$

❖ **Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan**

Interval waktu (menit)	Panjang gelombang (nm)	Panjang gelombang (nm)	Panjang gelombang (nm)	Rata-rata
0	0	0	0	0
5	0,367	0,372	0,366	0,368
10	0,129	0,129	0,128	0,128
15	0,119	0,120	0,122	0,120
20	0,114	0,112	0,113	0,113
25	0,107	0,104	0,106	0,105
30	0,101	0,099	0,100	0,100
35	0,097	0,095	0,097	0,096
40	0,100	0,101	0,102	0,101
45	0,095	0,106	0,097	0,099
50	0,094	0,092	0,095	0,093
55	0,091	0,089	0,090	0,090
60	0,097	0,096	0,097	0,096
65	0,098	0,096	0,102	0,098
70	0,093	0,092	0,096	0,094
75	0,096	0,093	0,096	0,095
80	0,092	0,090	0,096	0,093
85	0,091	0,092	0,089	0,091
90	0,083	0,081	0,081	0,081
95	0,091	0,091	0,089	0,090
100	0,079	0,080	0,080	0,079

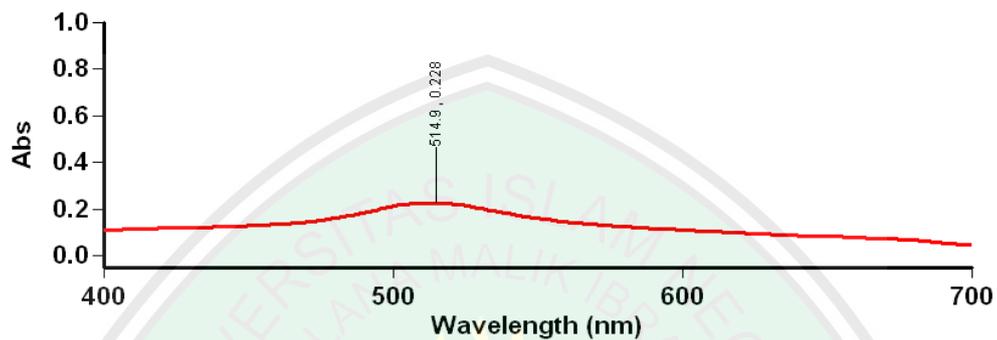


<b>Konsentrasi</b>	<b>Kombinasi P1</b>	<b>Kombinasi P2</b>	<b>Kombinasi P3</b>
Kontrol mikroba	$1,23 \times 10^{10}$	$1,23 \times 10^{10}$	$1,23 \times 10^{10}$
0,390 %	$45,96 \times 10^{10}$	$36,6 \times 10^{10}$	$20,3 \times 10^{10}$
0,780 %	$14,56 \times 10^{10}$	$14,56 \times 10^{10}$	$14,46 \times 10^{10}$
1,56 %	$0,00401 \times 10^{10}$	$0,00072 \times 10^{10}$	$0,0005 \times 10^{10}$
3,13 %	0	0	0
6,25 %	0	0	0
12,50 %	0	0	0
25 %	0	0	0
50 %	0	0	0
Kontrol bahan	0	0	0

## Lampiran 4. Hasil Penelitian

# Lamdha Maks DPPH

Tanggal Analisa : 07 April 2015



## Scan Analysis Report

Report Time : Tue 07 Apr 10:34:10 AM 2015

Method:

Batch: D:\Bu Bayin\Lamdha Maks DPPH (07-04-2015).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

### Sample Name: DPPH

Collection Time 4/7/2015 10:34:48 AM

#### Peak Table

Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	700.0nm to 399.9nm

Wavelength (nm)	Abs
514.9	0.228

# Absorbansi Vitamin C

Tanggal Analisa : 17 April 2015

## Advanced Reads Report

Report time 4/17/2015 10:14:52 AM  
 Method  
 Batch name D:\Bu Bayin\Absorbansi Vitamin C (17-04-2015).BAB  
 Application Advanced Reads 3.00 (339)  
 Operator Rika

### Instrument Settings

Instrument Cary 50  
 Instrument version no. 3.00  
 Wavelength (nm) 514.9  
 Ordinate Mode Abs  
 Ave Time (sec) 0.1000  
 Replicates 3  
 Sample averaging OFF

Comments:

### Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0934)	514.9

### Analysis

Collection time 4/17/2015 10:14:52 AM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.2880

				0.2885
	0.2885	0.0005	0.18	0.2891
25 ppm				0.0150
				0.0148
	0.0150	0.0001	0.98	0.0151
Kontrol				0.2900
				0.2880
	0.2888	0.0011	0.37	0.2884
50 ppm				0.0100
				0.0102
	0.0101	0.0001	0.82	0.0102
Kontrol				0.2901
				0.2898
	0.2894	0.0009	0.31	0.2884
100 ppm				0.0098
				0.0135
	0.0115	0.0019	16.48	0.0112
Kontrol				0.2880
				0.2881
	0.2881	0.0001	0.03	0.2882
200 ppm				0.0122
				0.0138
	0.0132	0.0009	6.54	0.0137
Kontrol				0.2888
				0.2889
	0.2890	0.0002	0.08	0.2892
400 ppm				0.0153

0.0128

0.0138 0.0013 9.32 0.0134

### Results Flags Legend

R = Repeat reading



❖ **KOMBINASI 1 EKSTRAK AIR**

Comparison of Fits	Global (shared)
Null hypothesis	Can't calculate
Alternative hypothesis	LogIC50 different for each data set
P value	LogIC50 same for all data sets
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)	

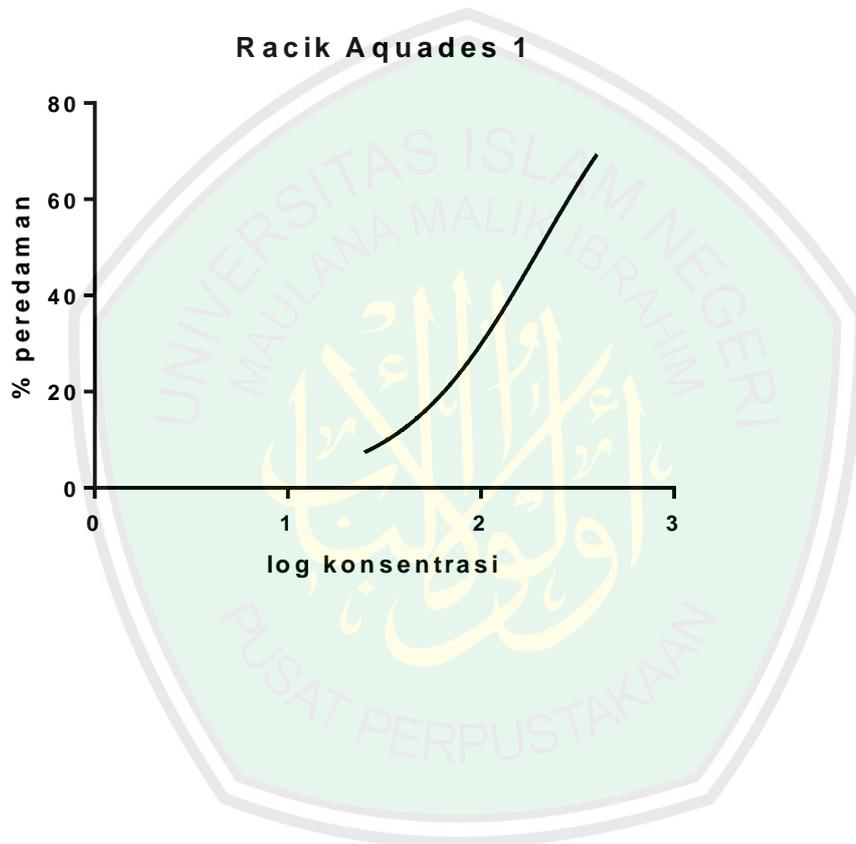
## LogIC50 different for each data set

Best-fit values	
Bottom	= 0.0
Top	= 100.0
LogIC50	2.307
HillSlope	1.207
IC50	202.7
Span	= 100.0
Std. Error	
LogIC50	0.04526
HillSlope	0.1681
95% Confidence Intervals	
LogIC50	2.163 to 2.451
HillSlope	0.6725 to 1.742
IC50	145.5 to 282.5
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R square	0.9718
Absolute Sum of Squares	76.26
Sy.x	5.042
Constraints	
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0

## LogIC50 same for all data sets

Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	2.307	2.307
HillSlope	1.207	
IC50	202.7	202.7
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.04526	0.04526
HillSlope	0.1681	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	2.163 to 2.451	2.163 to 2.451
HillSlope	0.6725 to 1.742	
IC50	145.5 to 282.5	145.5 to 282.5
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3

R square	0.9718	0.9718
Absolute Sum of Squares	76.26	76.26
Sy.x		5.042
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
Analyzed	5	



❖ **KOMBINASI 2 EKSTRAK AIR**

Comparison of Fits	Global (shared)
Null hypothesis	Can't calculate
Alternative hypothesis	LogIC50 different for each data set
P value	LogIC50 same for all data sets
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)	

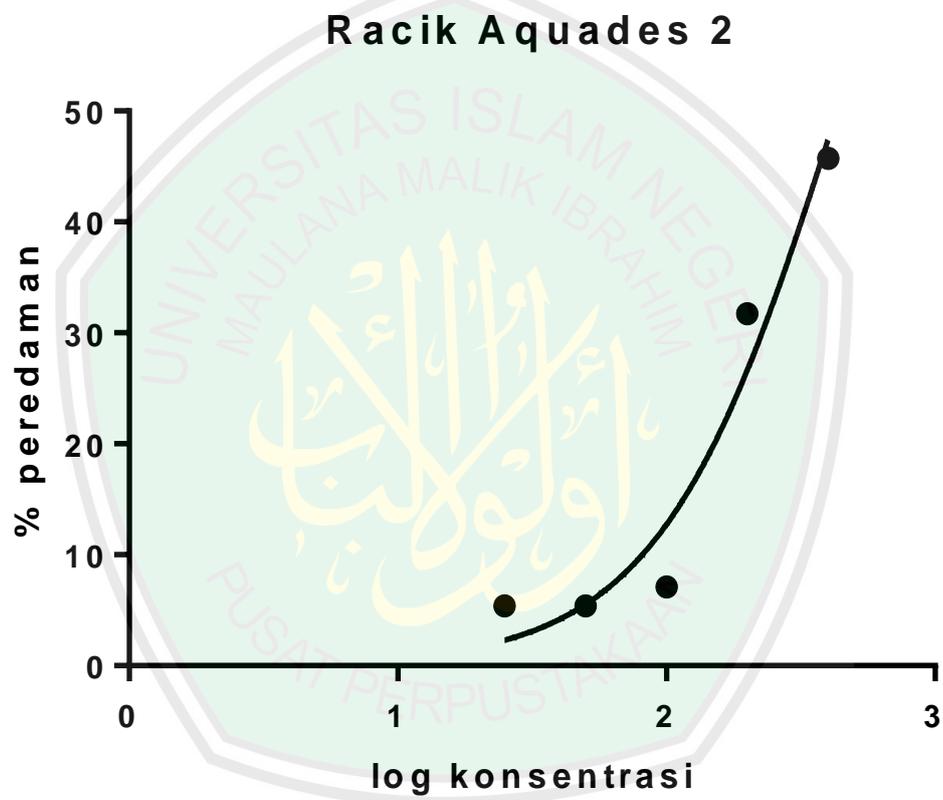
## LogIC50 different for each data set

Best-fit values	
Bottom	= 0.0
Top	= 100.0
LogIC50	2.635
HillSlope	1.316
IC50	431.9
Span	= 100.0
Std. Error	
LogIC50	0.06375
HillSlope	0.2556
95% Confidence Intervals	
LogIC50	2.433 to 2.838
HillSlope	0.5024 to 2.129
IC50	270.7 to 689.1
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R square	0.9497
Absolute Sum of Squares	69.82
Sy.x	4.824
Constraints	
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0

## LogIC50 same for all data sets

Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	2.635	2.635
HillSlope	1.316	
IC50	431.9	431.9
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.06375	0.06375
HillSlope	0.2556	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	2.433 to 2.838	2.433 to 2.838
HillSlope	0.5024 to 2.129	
IC50	270.7 to 689.1	270.7 to 689.1
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3

R square	0.9497	0.9497
Absolute Sum of Squares	69.82	69.82
Sy.x		4.824
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points Analyzed	5	



❖ **KOMBINASI 3 EKSTRAK AIR**

Comparison of Fits	Global (shared)
Null hypothesis	Can't calculate
Alternative hypothesis	LogIC50 different for each data set
P value	LogIC50 same for all data sets
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)	

## LogIC50 different for each data set

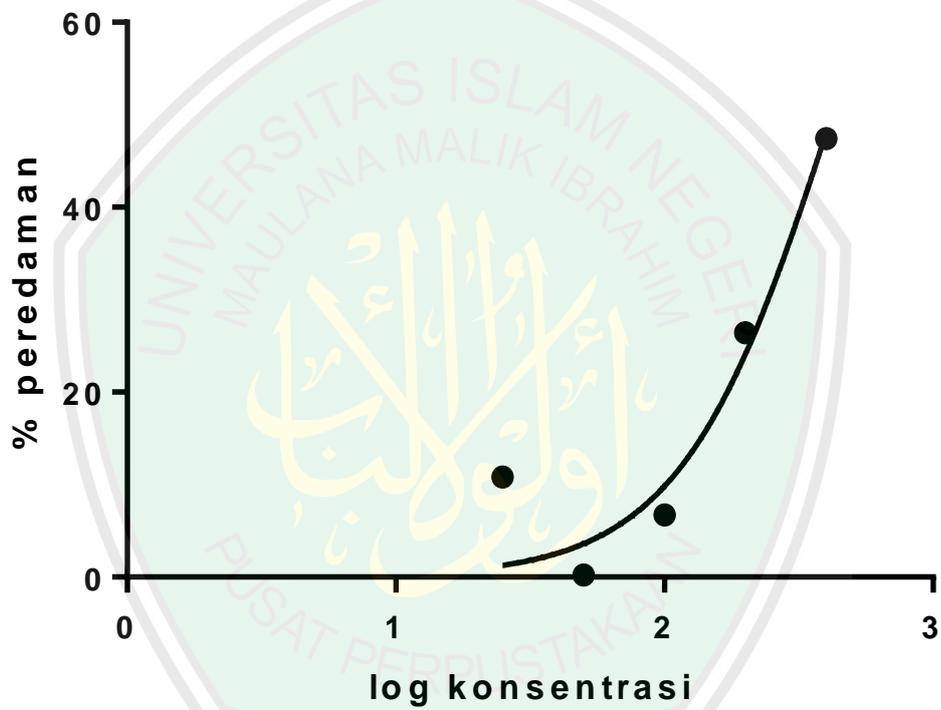
Best-fit values	
Bottom	= 0.0
Top	= 100.0
LogIC50	2.624
HillSlope	1.542
IC50	420.9
Span	= 100.0
Std. Error	
LogIC50	0.07109
HillSlope	0.4009
95% Confidence Intervals	
LogIC50	2.398 to 2.850
HillSlope	0.2665 to 2.818
IC50	250.0 to 708.7
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R square	0.9174
Absolute Sum of Squares	118.3
Sy.x	6.279
Constraints	
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0

## LogIC50 same for all data sets

Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	2.624	2.624
HillSlope	1.542	
IC50	420.9	420.9
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.07109	0.07109
HillSlope	0.4009	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	2.398 to 2.850	2.398 to 2.850
HillSlope	0.2665 to 2.818	
IC50	250.0 to 708.7	250.0 to 708.7
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3

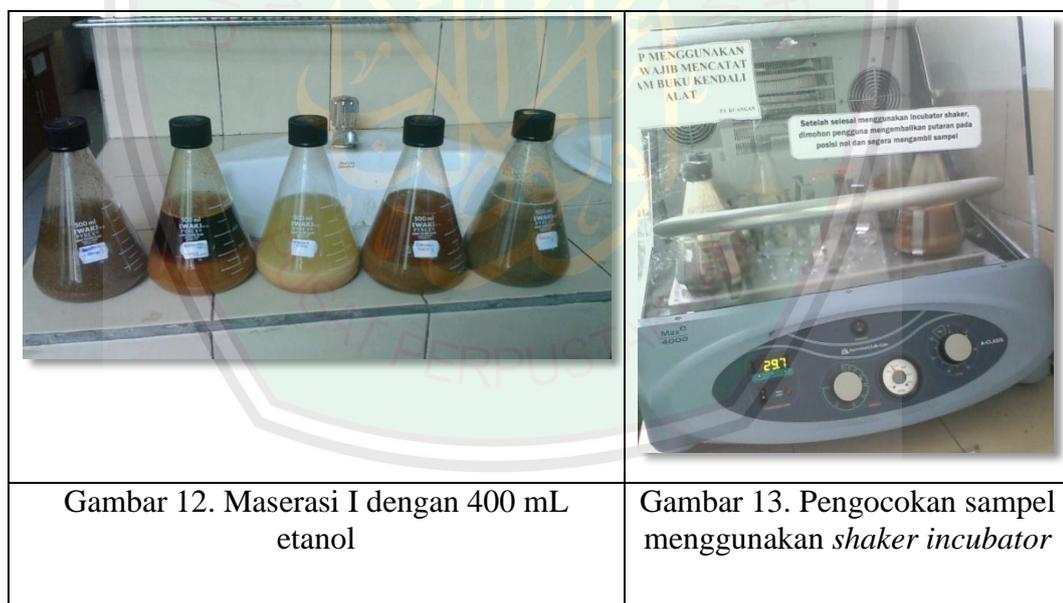
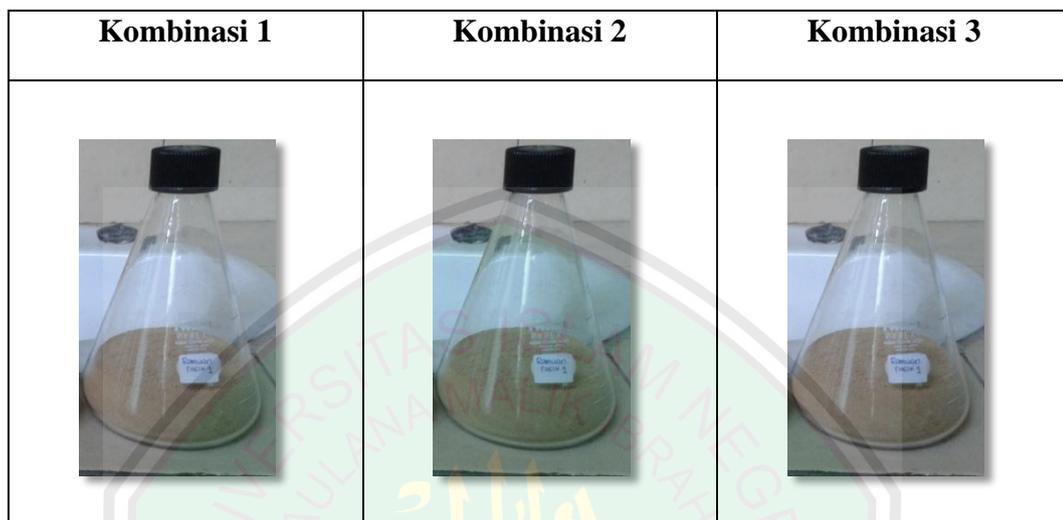
R square	0.9174	0.9174
Absolute Sum of Squares	118.3	118.3
Sy.x		6.279
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
Analyzed	5	

### Racik Aquades 3



### Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

- ❖ Ekstraksi Sampel *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.





Gambar 14. Ekstrak I hasil maserasi 400 mL pelarut aquades



Gambar 15. Maserasi II menggunakan 400 mL pelarut aquades



Gambar 15. Pengambilan ekstrak menggunakan corong buchner

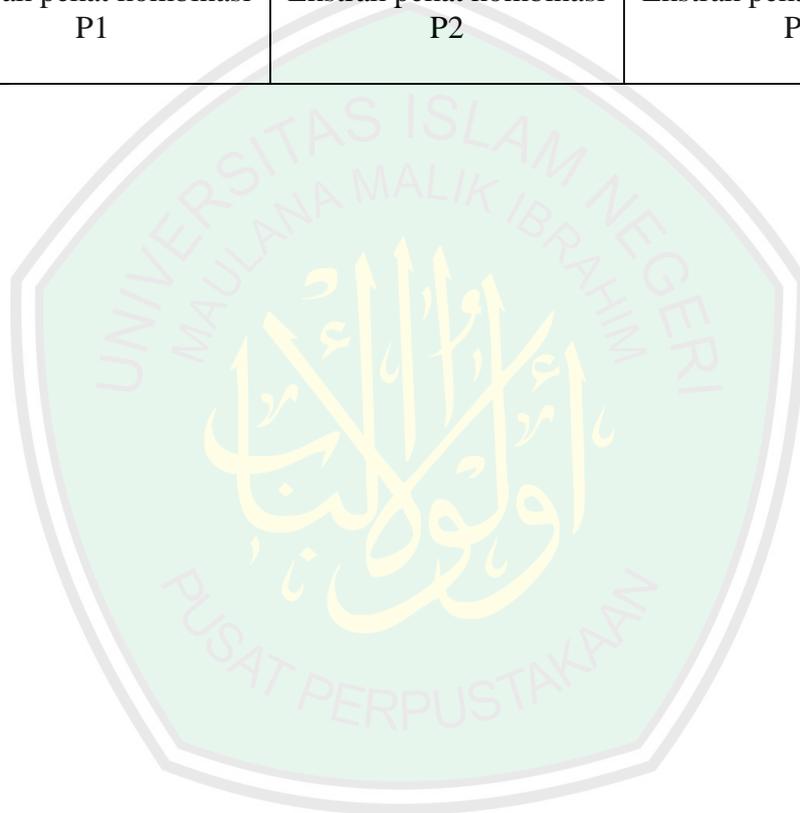


Gambar 17. Ekstrak III hasil 200 mL aquades

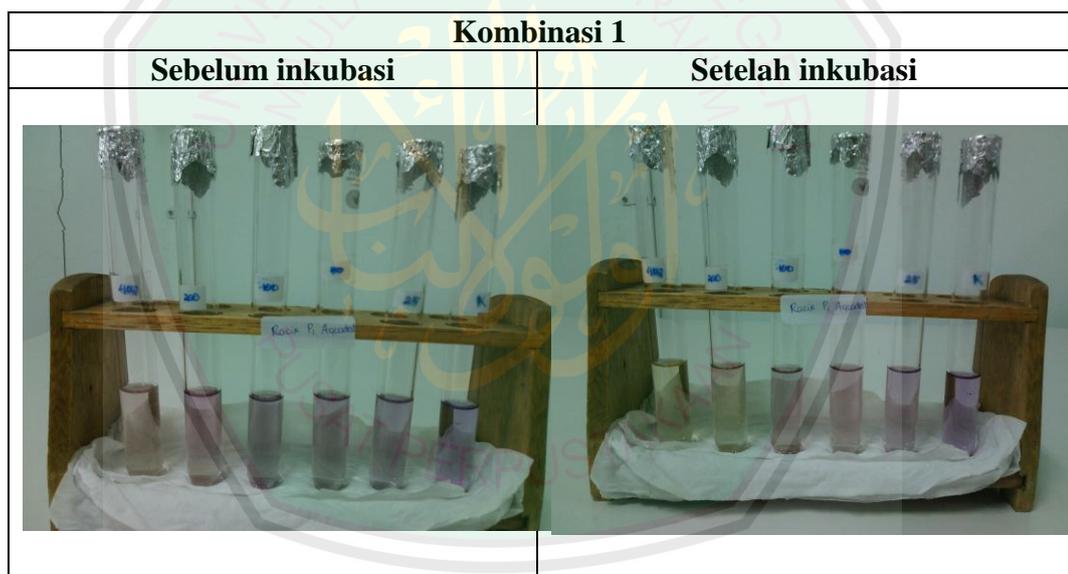
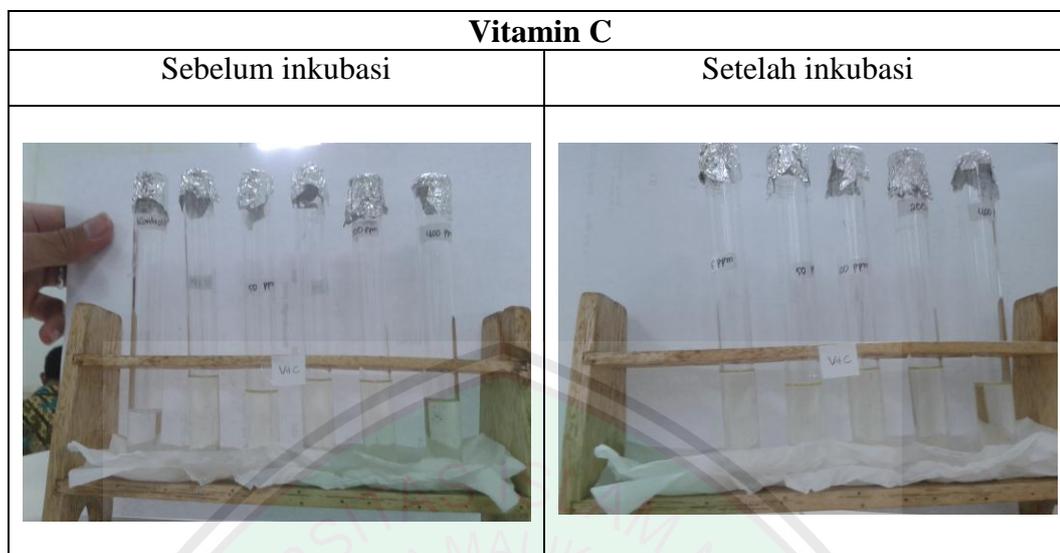


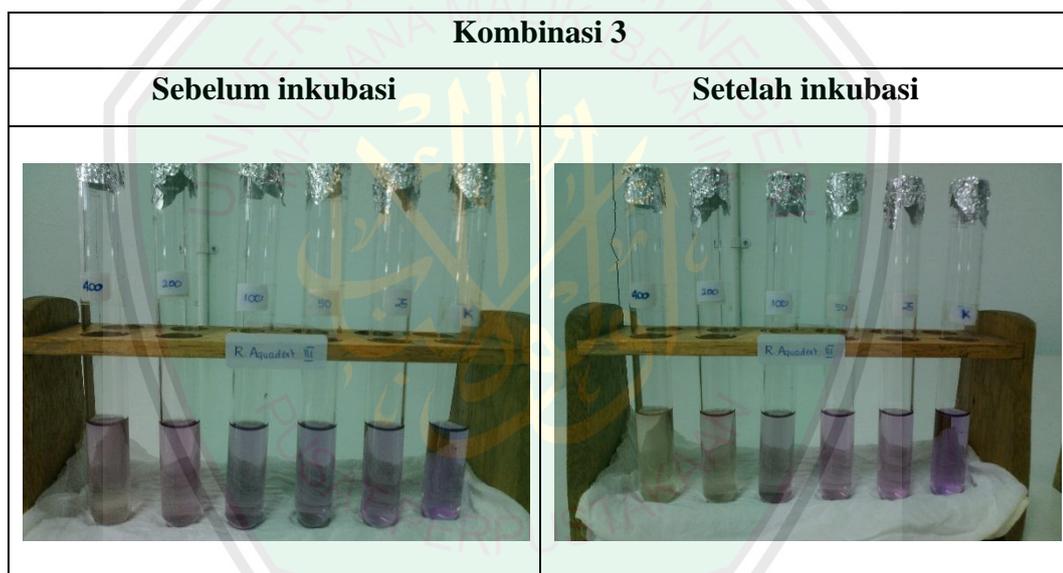
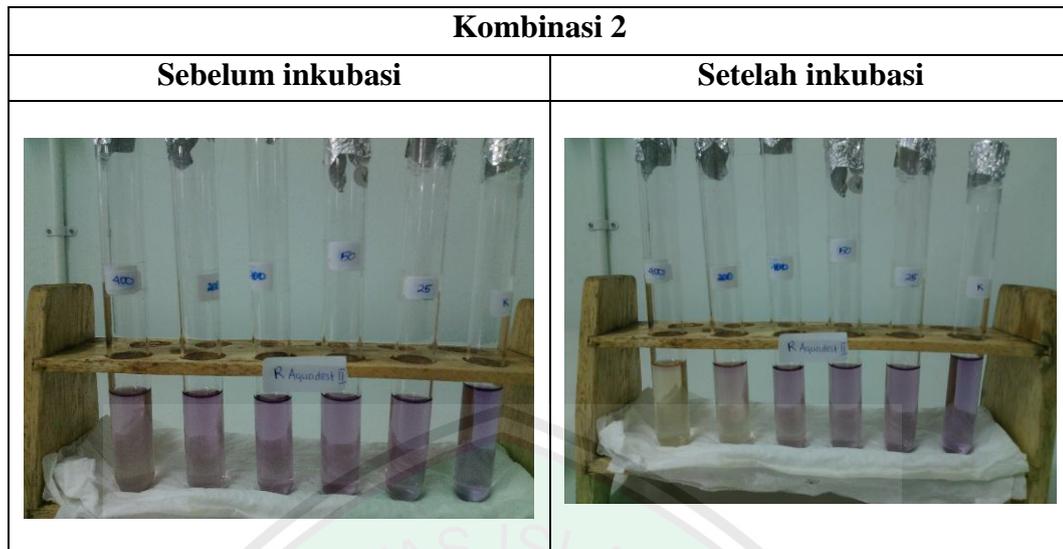
Gambar 18. Pemekatan ekstrak menggunakan *rotary evaporator*

		
Ekstrak pekat kombinasi P1	Ekstrak pekat kombinasi P2	Ekstrak pekat kombinasi P3

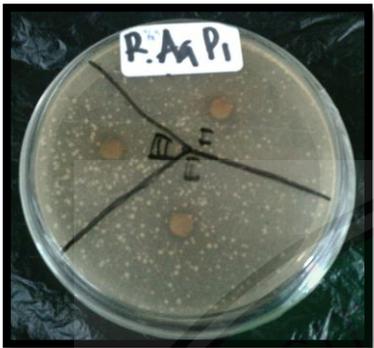
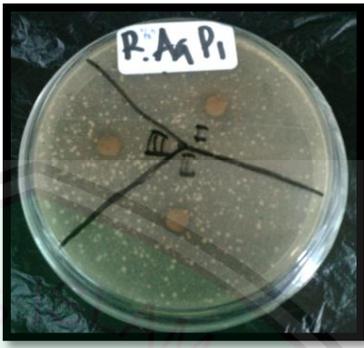
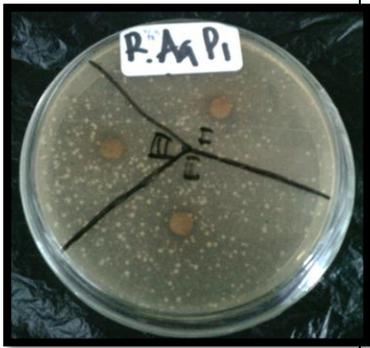


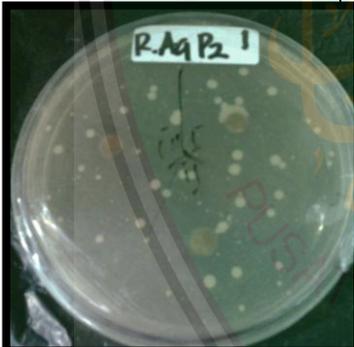
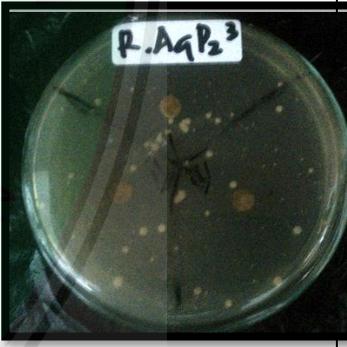
## ❖ Uji Antioksidan

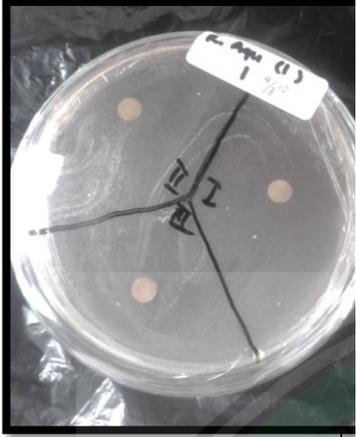
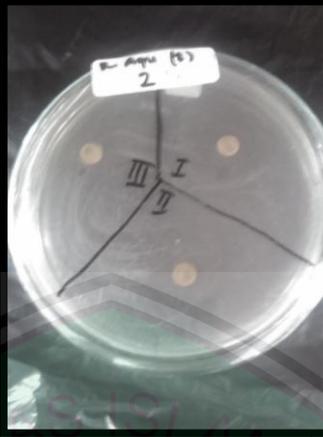


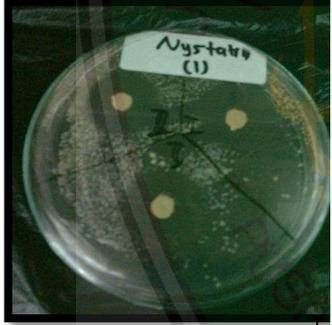


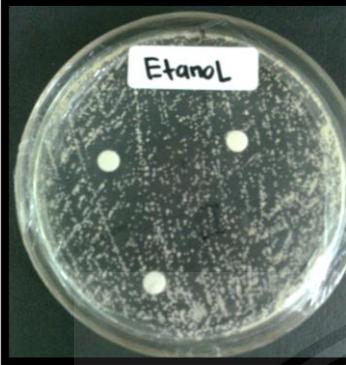
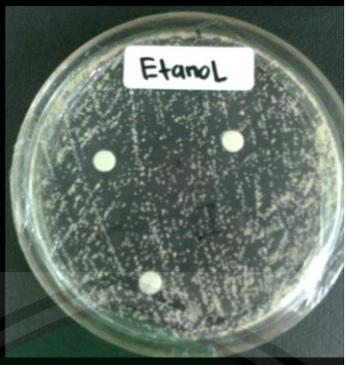
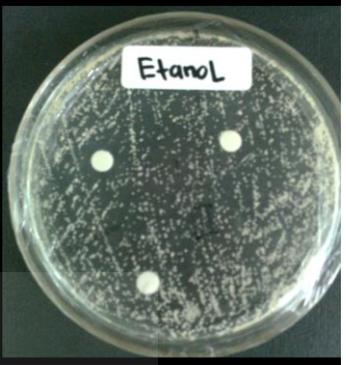
- ❖ Dokumentasi Uji Kertas Cakram pada kombinasi ekstrak air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.

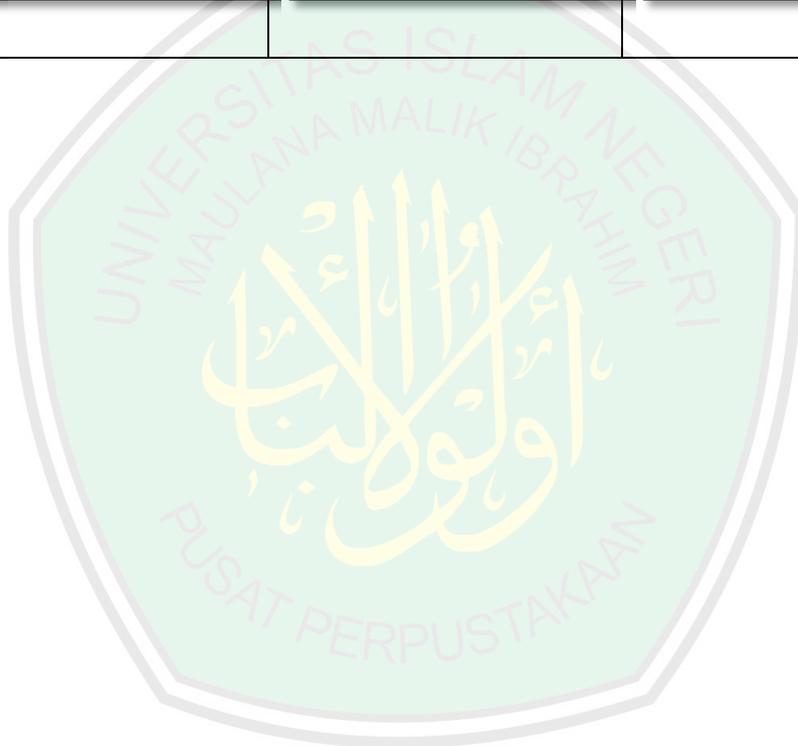
Kombinasi 1		
Inkubasi 1x 24 jam	Inkubasi 2x 24 jam	Inkubasi 3x 24 jam
		

Kombinasi 2		
Inkubasi 1x 24 jam	Inkubasi 2x 24 jam	Inkubasi 3x 24 jam
		

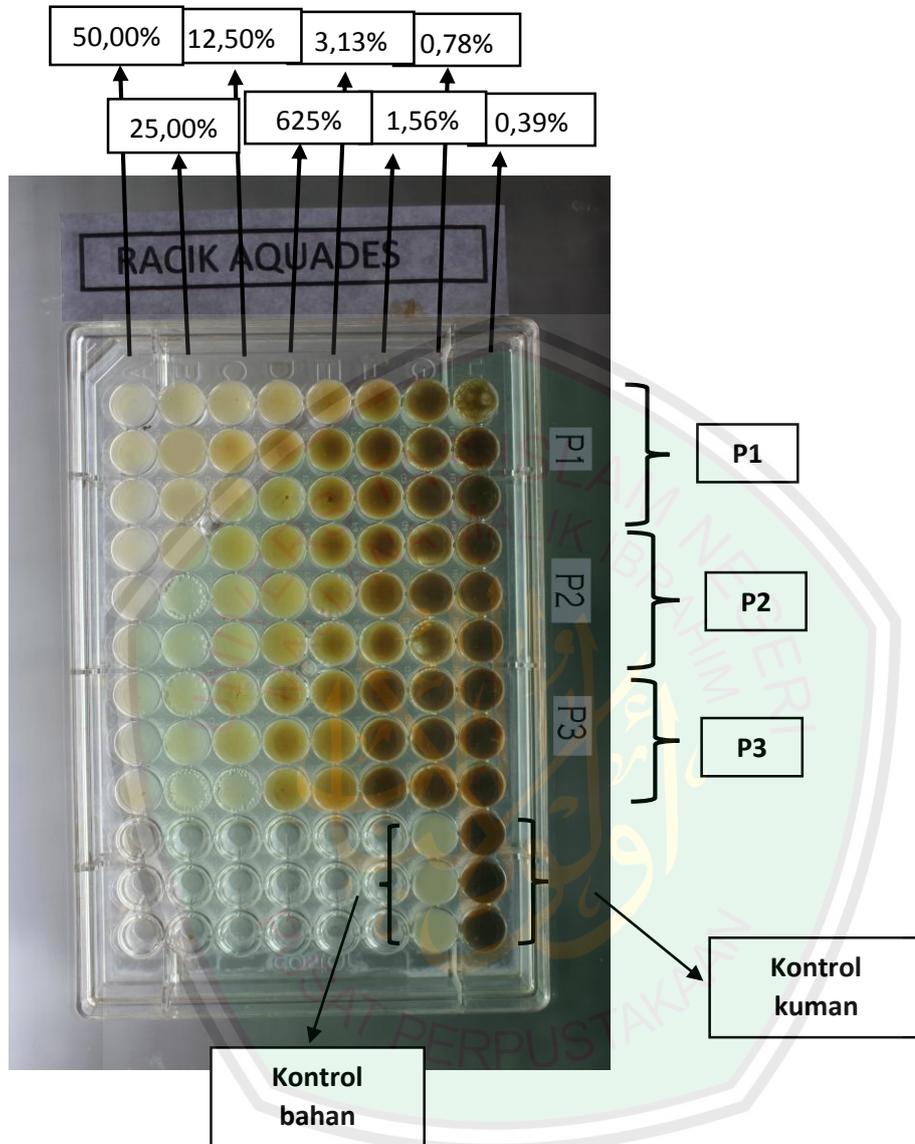
Kombinasi 3		
Inkubasi 1x 24 jam	Inkubasi 2x 24 jam	Inkubasi 3x 24 jam
		

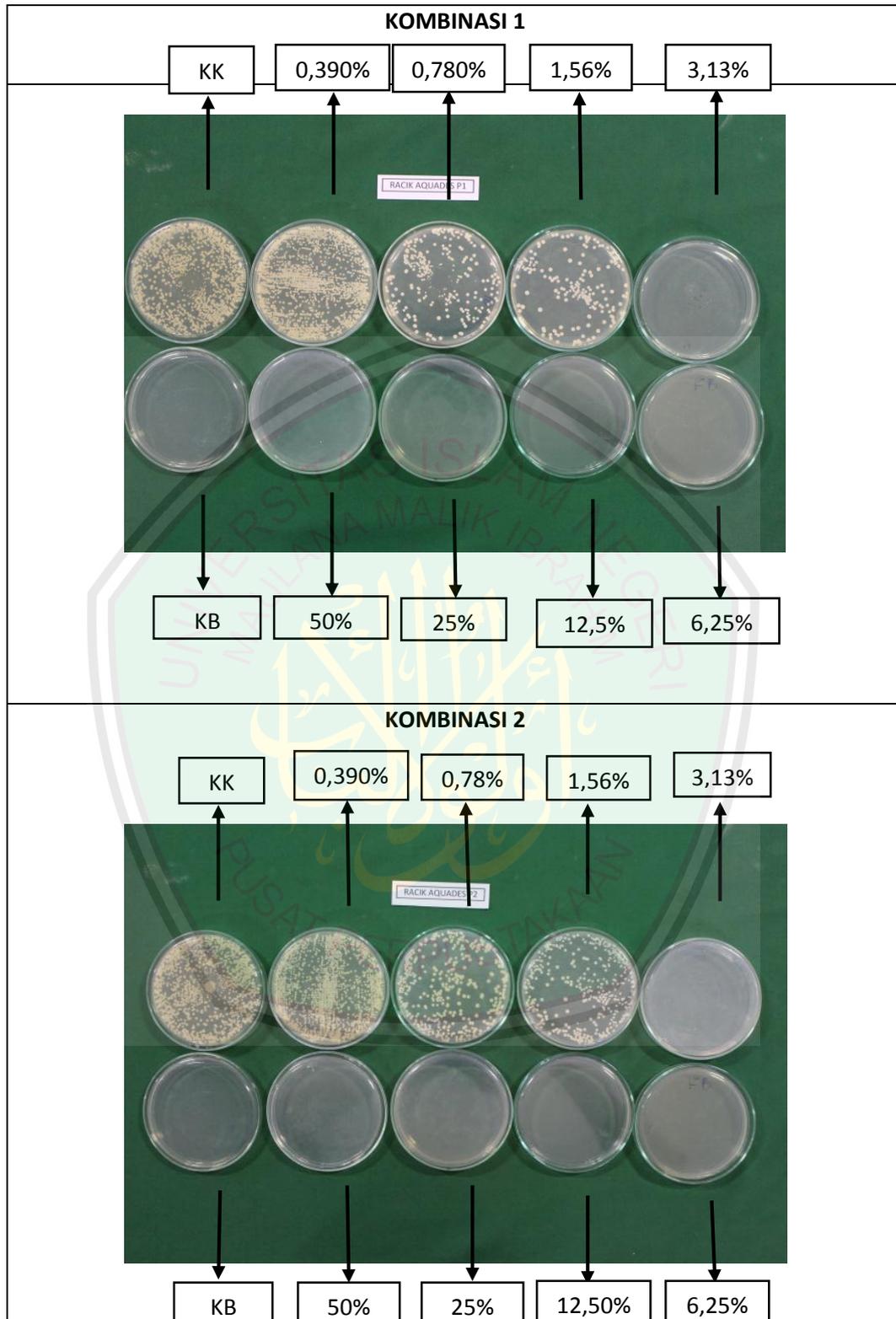
Nistatin		
Inkubasi 1x 24 jam	Inkubasi 2x 24 jam	Inkubasi 3x 24 jam
		

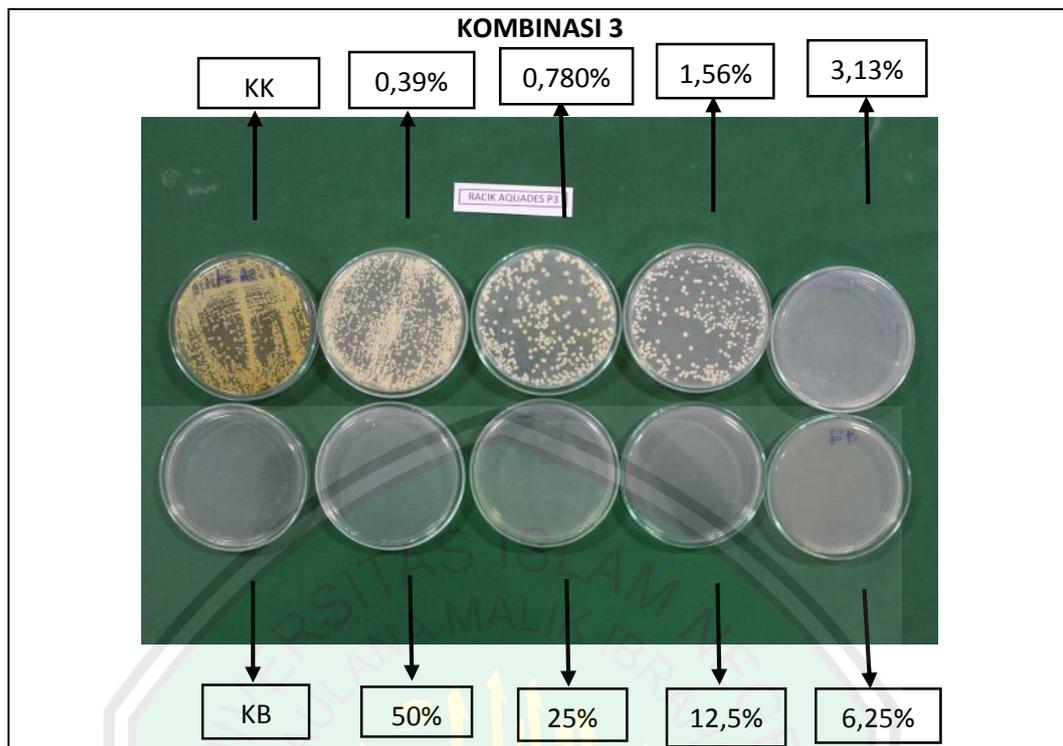
Etanol		
Inkubasi 1x 24 jam	Inkubasi 2x 24 jam	Inkubasi 3x 24 jam
		



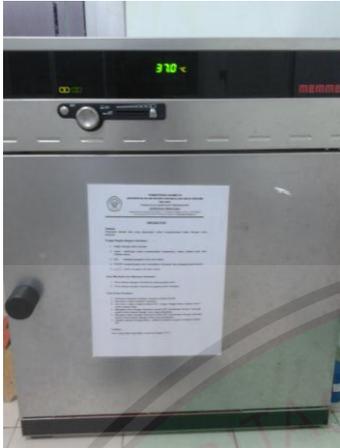
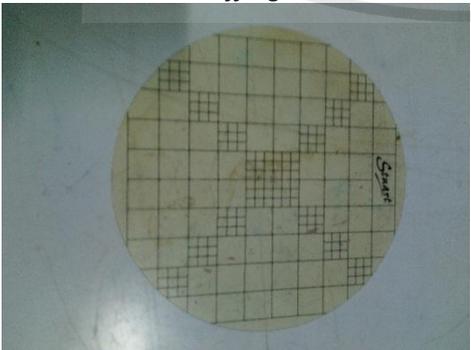
❖ Uji Khm Dan Kbm Terhadap *Candida Albicans*







## LAMPIRAN 6. DOKUMENTASI ALAT

Oven	Rotary evaporator
	
	
	

Persiapan alat sebelum *running* sampel



Persiapan alat dan bahan yang digunakan dalam uji Antifungi



Pengambilan ekstrak kombinasi ke dalam alat uji



Pengambilan ekstrak ke dalam tabung uji



Pengambilan ekstrak ke dalam tabung uji



Pengambilan ekstrak dengan metode dilusi tabung



Penanaman suspensi jamur ke dalam cawan petri



Penanaman suspensi jamur *Candida albicans*



Penanaman hasil suspensi jamur ke dalam media SDA



Perhitungan jumlah koloni jamur dengan *colony counter*



Proses penyimpanan(inkubasi) hasil uji ke dalam inkubator





KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang  
Website: www.uin-malang.ac.id E-mail: info@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Lusi Agita Rahmawati  
NIM : 11620008  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil/Genap TA 2015/2016  
Pembimbing : Dr.drh.Bayyinatul Muchtaromah, M.Si  
Judul Skripsi : Potensi Kombinasi Ekstrak Air dari *Curcuma mangga*  
Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn.  
Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi *Candida albicans* secara In-Vitro

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd.Pembimbing
1.	Rabu, 28 Januari 2015	Konsultasi Judul	1.
2.	Jum'at, 30 Januari 2015	Konsultasi Bab I	2.
3.	Rabu, 18 Februari 2015	Konsultasi Bab I dan II	3.
4.	Kamis, 12 Maret 2015	Konsultasi Bab II dan III	4.
5.	Selasa, 24 Maret 2015	Konsultasi Bab I, II, dan III	5.
6.	Jum'at, 10 April 2015	Konsultasi Revisi Bab I, II dan III	6.
7.	Rabu, 13 Mei 2015	Konsultasi Sebelum Penelitian	7.
8.	Jum'at, 21 Agustus 2015	Konsultasi data hasil penelitian	8.
9.	Kamis, 3 September 2015	Konsultasi Bab IV data hasil dan pembahasan	9.
10.	Rabu, 16 September 2015	ACC Bab I, II, III, IV, dan V	10.

Malang, 16 November 2015

Dosen Pembimbing,

Dr.drh.Bayyinatul M.,M.Si  
NIP. 19710919 200003 2 001

Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang  
Website: www.uin-malang.ac.id E mail: info@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Lusi Agita Rahmawati  
NIM : 11620008  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil/Genap TA 2015/2016  
Pembimbing Agama : Mujahidin Ahmad, M.Sc  
Judul Skripsi : Potensi Kombinasi Ekstrak Air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi *Candida albicans* secara In-Vitro

No	Hari/Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd.Pembimbing
1.	Rabu, 11 Maret 2015	Konsultasi Kajian Integrasi Al Qur'an Bab I	1.
2.	Selasa, 24 Maret 2015	Konsultasi Revisi Bab I dan Kajian Integrasi Al Qur'an dan Hadits Bab II	2.
3.	Kamis, 2 April 2015	Konsultasi Revisi Bab II	3.
4.	Senin, 13 Oktober 2015	Konsultasi Kajian Integrasi Al Qur'an dan Hadits Bab IV	4.
5.	Rabu, 28 Oktober 2015	Konsultasi Revisi Bab IV	5.
6.	Kamis, 29 Oktober 2015	ACC Maju Sidang	6.

Malang, 16 November 2015

Dosen Pembimbing,

Mujahidin Ahmad, M.Sc

NIPT. NIPT. 2013 0902 1313

Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIPT. 19741018 200312 2 002



**DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR**  
**UPT MATERIA MEDICA**

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)  
**KOTA BATU**

Nomor : 074/550/101.8/2015  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Temu Mangga**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : LUSI AGITA RAHMAWATI  
NIM : 11620008  
Instansi : FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman temu mangga

Kingdom : Plantae  
Sub Kingdom : Tracheobionta (berpembuluh)  
Super Divisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Sub divisi : Angiospermae  
Kelas : Monocotyledonae  
Bangsa : Zingiberales  
Suku : Zingiberaceae  
Marga : Curcuma  
Jenis : *Curcuma mangga* Val.  
Sinonim : *Curcuma alba* L.  
Nama Daerah : Temu mangga, koneng joho, koneng lalab, koneng pare, temu bajangan, temu poh.  
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109a-110b-111b-112a -113b-116a -119b -120b-128b-129a-130b-132a.

2. Morfologi : Habitus: Semak, tinggi 1-2 m. Batang: Semu, tegak, lunak, batang di dalam tanah membentuk rimpang, hijau. Daun: Tunggal, berpelepah, lonjong, tepi rata, ujung dan pangkal meruncing, panjang  $\pm 1$  m, lebar 10-20 cm, pertulangan menyirip, hijau. Bunga: Majemuk, di ketiak daun, bentuk tabung, ujung terbelah, benang sari menempel pada mahkota, putih, putik silindris, kepala putik bulat, kuning mahkota lonjong, putih. Buah: Kotak, bulat, hijau kekuningan. Biji: Bulat, coklat. Akar: Serabut, putih.

3. Nama Simplisia : Curcumae Manggae Rhizoma/ Rimpang Temu Mangga.

4. Kandungan : Rimpang dan daun *Curcuma mangga* mengandung saponin dan flavonoida, di samping itu daunnya juga mengandung polifenol.

5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.roemahobatalami.com/temumangga>, diakses tanggal 3 April 2009.
- Anonim. [http://www.warintek.ristek.go.id/temu\\_mangga](http://www.warintek.ristek.go.id/temu_mangga), diakses tanggal 9 Januari 2009.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia II*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 2 Oktober 2015

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin RM, Apt. M.Kes.  
NIP.19611102 199103 1 003



Nomor : 074/549/101.3/2015  
Sifat : Biasa  
Perihal : Determinasi Tanaman Bawang Putih

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : LUSI AGITA RAHMAWATI  
NIM : 11620008  
Instansi : FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bawang putih

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)  
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)  
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)  
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : Monocotyledonae  
Bangsa : Liliales  
Suku : Liliaceae  
Marga : Allium  
Jenis : *Allium sativum* Linn.  
Nama Umum : Garlic (Inggris), bawang putih (Indonesia), bawang (Jawa), bawang bodas (Sunda), bawang handak (Lampung), kasuna (Bali), Issuna pute (Bugis), bhabang pote (Madura), bewa bodudo (Ternate), kalfeo foleu (Timor).  
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109a-110b-111a-112a-113b-116a-119b-120b-128b-129b-135b-136a-137b.

2. Morfologi : Habitus: Herba, semusim, tinggi 40-60 cm, berumbi lapis atau siung yang bersusun dan setiap umbi bawang putih terdiri dari sejumlah anak bawang (siung) yang setiap siungnya terbungkus kulit tipis berwarna putih. Batang: Batang semu yang terbentuk dari pelepah-pelepah daun. Daun: Tunggal, memeluk umbi lapis, bentuk mirip pita, putih dan memanjang. Bunga: Majemuk, bentuk bongkol, bertangkai silindris, panjang ±40 cm, hijau, benang sari emas, tangkai sari putih, kepala sari hijau, putik menancup pada dasar bunga, mahkota bentuk bulat telur, ujung runcing, tengahnya bergaris putih. Buah: Batu, bulat, hijau. Biji: Segi tiga, hitam. Akar: Serabut, putih.

3. Nama Simplisia : Alli Sativa Bulbus/ Umbi Lapis Bawang Putih.

4. Kandungan : Dari umbi bawang putih per 100 gram mengandung: protein sebesar 4.5 g, lemak 0.20 g, hidrat arang 23.1 g, vitamin B1 0.22 mg, vitamin C 15 mg, kalori 95 kal, posfor 134 mg, kalsium 42 mg, zat besi 1 mg, dan air 71 gram. Di samping itu, umbi bawang putih mengandung zat aktif awcin, awn, enzim alinase, germanium, sativine, sinistrine, selenium, scordinin, nicotinic acid, saponin, polifenol dan minyak atsiri yang terdiri atas dialil disulfide, allipropil disulfide, juga glikosida alliin, dan aliisin.

5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi)

6. Daftar Pustaka

- o Anonim. [http://www.iptek.net.id/Bawang\\_Putih](http://www.iptek.net.id/Bawang_Putih), diakses 21 Oktober 2010.
- o Anonim. [http://www.plantamor.com/Bawang\\_Putih](http://www.plantamor.com/Bawang_Putih), diakses 12 Desember 2010.
- o Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johnny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- o Tjitrosopomo, Gembong. 2005. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. UGM Press, Yogyakarta.
- o Van Steenis, CGGI. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 2 Oktober 2015

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husein RM, Apt. M.Kes.  
NIP.19611102 199103 1 003



**DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR**  
**UPT MATERIA MEDICA**

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)

**KOTA BATU**

Nomor : 074/551/101.8/2015  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Jeringau**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : LUSI AGITA RAHMAWATI  
NIM : 11620008  
Instansi : FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman jeringau

Kingdom : Plantae  
Sub Kingdom : Tracheobionta (berpembuluh)  
Super Divisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Sub divisi : Angiospermae  
Kelas : Monocotyledonae  
Bangsa : Arales  
Suku : Araceae  
Marga : Acorus  
Jenis : *Acorus calamus* L.  
Sinonim : *Acorus terrestris* Spreng.  
Nama Daerah : Jeringau, jeringau (Indonesia), jeurunger (Aceh), jerango (Gayo), jerango (Batak), jarianggu (Minangkabau), daringo (Sunda), dlingo (Jawa Tengah), jharango (Madura), Jangu (Bali), kaliraga (Flores), jeringo (Sasak), kareango (Makasar), kalamunga (Minahasa), areango (Bugis), ai wahu (Ambon), bila (Buru).

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208a-209a.

2. Morfologi : Habitus: Herba, tahunan, tinggi ±75 cm. Batang: Basah, pendek, membentuk rimpang, putih kotor. Daun: Tunggal, benluk lanset, ujung runcing, tepi rata, pangkal memeluk batang, panjang ±60 cm, lebar ±5 cm, pertulangan sejajar, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk bongkol, ujung meruncing, panjang 20-25 cm, di ketiak daun, tangkai sari panjang ±2,75 mm, kepala sari panjang ±2,75 mm, kepala sari panjang ±0.5 mm, putik 1-1.5 mm, kepala putik meruncing, panjang ±0.5 mm, mahkota bulat panjang, panjang 1-1.5 mm, putih. Akar: Serabut, coklat.

3. Nama Simplisia : Acori Rhizorna, Calami Rhizorna/ Rimpang Jeringau.

4. Kandungan kimia : Rimpang dan daun *Acorus calamus* mengandung saponin dan flavonoida. Rimpangnya mengandung minyak atsiri (asaron), glikosida (akorina), akoretina, kholina, kalameona, isokalamendiol, epi-isokalamendiol, siobunona, akorona, koronona, trimetil amina, saponin, lendir, aneurin, dan vitamin C.

5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.idionline.com/Jeringau>, diakses tanggal 11 Desember 2005.
- Anonim. <http://www.plantamor.com/Dlingu>, diakses tanggal 12 Mei 2010.
- Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/Dilingu>, diakses tanggal 12 Januari 2010.
- Van Steenis, CCGI. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 2 Oktober 2015  
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin RM, Apt. M. Kes.  
NIP.19611102 199103 1 003