POTENSI ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI EKSTRAK ETANOL KOMBINASI Acorus calamus (L.), Curcuma mangga VAL., DAN Allium sativum (LINN.) SECARA IN VITRO

SKRIPSI



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

POTENSI ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI

EKSTRAK ETANOL KOMBINASI Acorus calamus (L.), Curcuma mangga VAL., DAN Allium sativum (LINN.) SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

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

Oleh:

YUNI MA'RIFATUL AFIFAH NIM. 11620016/S-1

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

2015

POTENSI ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI PADA Candida albicans DARI KOMBINASI Acorus calamus (L.), Curcuma mangga VAL., DAN Allium sativum (LINN.) MENGGUNAKAN PELARUT ETANOL SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Oleh: YUNI MA'RIFATUL AFIFAH 11620016

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I

The

<u>Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si</u> NIP. 19710919 200003 2 001 Pembimbing II

Mujahidin Ahmad, M.Sc NIPT. 2013 0902 1313

Tanggal, 30 Oktober 2015 Mengetahui, AS Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.

NIP. 19741018 200312 2 002

POTENSI ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI PADA Candida albicans DARI KOMBINASI Acorus calamus (L.), Curcuma mangga VAL., DAN Allium sativum (LINN.) MENGGUNAKAN PELARUT ETANOL SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Oleh: YUNI MA'RIFATUL AFIFAH 11620016

Telah dipertahankan di Depan Dewan penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si) Tanggal: 06 November 2015

Penguji Utama:	Ir. Liliek Harianie, M.P NIP. 19620901 19903 2 001	Anish
Ketua Penguji:	Anik Maunatin, M.P NIPT. 20140201 2 412	fit fin
Sekretaris Penguji:	Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si NIP. 19710919 200003 2 001	Os
Anggota Penguji:	Mujahidin Ahmad, M.Sc NIPT. 2013 0902 1313	Hull

Mengetahui, Ketua Jurusan Biologi

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

SURAT PERNYATAN ORISINALITAS TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yuni Ma'rifatul Afifah

NIM : 11620016

Jurusan/Fakultas : Biologi/Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Potensi Antioksidan Dan Antifungi Pada Candida albicans

Dari Kombinasi *Acorus Calamus* (L.), *Curcuma Manggae* Val, Dan *Allium Sativum* (Linn.) Menggunakan Pelarut

Etanol Secara In Vitro.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang saya tulis dari hasil penelitian ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan (plagiasi) karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 17 Oktober 2015 Yang Membuat Pernyataan,

> Yuni Ma'rifatul Afifah NIM. 11620016

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah puji syukur kupanjatkan kepada Allah 🕦 yang Maha Kuasa dan Maha Berkehendak atas segala sesuatu dengan kasih sayang-Nya yang selalu memperi petunjuk kepadaku

Kupersembahkan karya ini untuk...

Ayahanda dan Ibundaku (Bpk. Arifin S. Pd.I dan Ibu. Sriwahyuni), kepada beliau berdua secara khusus ku ucapkan terimakasih, penghargaan dan penghormatan yang setinggi-tingginya atas pendidikan dan do'a yang mereka berikan.

Adikku (Riza dwi rohmawati dan Baqiyatus sholihah) yang selalu memberi hiburan, tawa dan canda.

Andhika Sukmana yang selalu memberi motivasi dan dukungannya untuk ku.

Team "Jokotole Research" yang telah berjuang keras untuk menyelesaikan penelitian ini.

Sahabat-sahabatku Biologi 2011, khususnya teman-teman peneliti mikrobiologi UIN Maliki Malang terimakasih atas semangat yang tak hentihentinya.

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ ٱلْعُسْرِيُسْرًا ﴿ إِنَّ مَعَ ٱلْعُسْرِيُسْرًا ﴿ فَإِذَا فَرَغْتَ فَٱنصَبْ ﴾ فَإِذَا فَرَغْتَ فَٱنصَبْ

Artinya" Karena Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain) (Q.S Al Insyirah 5-7)



KATA PENGANTAR

بيمالنبالخظاحين

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadirat Allah 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 tercurahkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad . 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. 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.
- 2. Prof. Sutiman B. Sumitro, S.U, D.Sc dan 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.
- 3. 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.
- 4. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dosen Pembimbing skripsi sekaligus Dosen Wali 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.
- 5. Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.

- 6. Ir. Liliek Harianie, M.P dan Anik Maunatin, M.P selaku Dosen Penguji yang telah memberi masukan dan saran-saran yang membangun kepada penulis.
- 7. dr. Nurlaili Susanti, S.Ked, Yanu Andhiarto, M.Farm, Fitria Nurul Mutmainah, Velayaty Labone Azzahra, S.Si dan khususnya tim kecilku (Arsinta Sulistyorini, Lusi Agita Rahmawati, dan Muhammad Nur Hasan kerja keras kita selama ini akhirnya berhasil) dan 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.
- 8. Amalia Fitriani, M.Si, Romaidi, M.Si, Andik Wijayanto, M.Si, Ainun Nikmati Laily, M.Si dan segenap Dosen Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah turut membimbing dan mencurahkan segenap ilmunya kepada penulis selama menempuh studi di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- 9. 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.
- 10. 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.
- 11. 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.
- 12. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Karena kesempurnaan hanya milik Allah . 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, Oktober 2015



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK	
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan penelitian	
1.4 Hipotesis.	8
1.5 Manfaat Penelitian	
1.6 Batasan Masalah	
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Deskripsi Tumbuhan Jeringau	
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Je <mark>ring</mark> au	
2.1.2 Kandungan Ki <mark>mia Rimpang Jeringau</mark>	14
2.1.3 Khasiat Rimpang Jeringau	
2.2 Deskripsi Tumbuhan Temu Mangga	
2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Temu Mangga	
2.2.2 Nama Lain	
2.2.3 Habitat Dan Persebaran	
2.2.4 Kandungan Kimia Temu Mangga	
2.2.5 Khasiat Rimpang Temu Mangga	21
2.3 Deskripsi Tumbuhan Bawang Putih	22
2.3.1 Klasifikasi Tumbuhan Bawang Putih	
2.3.2 Kandungan Kimia Bawang Putih	
2.3.3 Khasiat Bawang Putih	
2.4 Metode Ekstraksi dengan Maserasi	
2.5 Kandungan Senyawa Fitokimia pada Kombinasi Acorus calam	
mangga, dan Allium sativum	
2.6 Radikal Bebas	
2.7 Antioksidan	
2.7.1 Sumber-sumber Antioksidan	
2.7.1.1 Antioksidan Alami	
2.7.1.2 Antioksidan Sintetik	
2.7.1 Manfaat Antioksidan	44

2.7.3 Sumber Antioksidan dan Mekanisme Kerjanya	45
2.7.4 Metode Uji Antioksidan dengan Perendaman DPPH	
2.8 Antifungi	
2.8.1 Pertumbuhan Jamur	
2.8.2 Karakteristik Jamur Candida albicans	56
2.8.3 Klasifikasi jamur Candida albicans	56
2.8.4 Morfologi dan Identifikasi	
2.8.5 Dinding sel Candida albicans	58
2.8.6 Patogenitas Candida albicans	60
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	62
3.2 Waktu dan Tempat	62
3.3 Variabel Penelitian	
3.3.1 Variabel Bebas	63
3.3.2 Variabel Terikat	63
3.3.3 Variabel Terkontrol	64
3.4 Alat dan Bahan	64
3.4.1 Alat	
3.4.2 Bahan	
3.5 Prosedur Penelitian	
3.5.1 Preparasi Sampel	
3.5.2 Penentuan Rendemen	
3.5.3 Ekstraksi Kombinasi 1, 2, dan 3 dengan Metode Maserasi	
3.6 Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH	
3.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	
3.6.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan	70
3.6.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel	70
3.7 Uji Antifungi	
3.7.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	
3.7.2 Pembuatan Media SDA	
3.7.3 Pembuatan Media SDB	
3.7.4 Pembuatan LarutanUji	
3.7.5 Peremajaan Biakan Murni Jamur Candida albicans	73
3.7.6 Pembuatan Suspensi Jamur <i>Candida albicans</i>	
3.7.7 Uji Antifungi Metode Cakram Secara " <i>Pour Plate</i> "	
3.7.8 Uji Konsentrasi KHM dan KBM	
3.7.9 Penghitungan Koloni Jamur Secara "Streak Plate"	
3.8 Analisa Data	
3.8.1 Analisa Data Uji Antioksidan	
3.8.2 Analisa Data Uji Antifungi	
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Perhitungan Rendemen	
4.2 Potensi Ekstrak Kombinasi Sebagai Antioksidan	
4.2.1 Hasil Persen (%) Aktivitas Antioksidan	
4.2.1 Hasil Nilai <i>Inhibition Concentration</i> (IC ₅₀)	
4.2 Potensi Fkstrak Kombinasi Sebagai Antifungi Candida albicans	

4.2.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat	88
4.2.2 Hasil Penentuan Kadar Hambat Minimum	92
4.2.3 Hasil Penentuan Kadar Bunuh Minimum	93
BAB V PENUTUP	103
5.1 Kesimpulan	103
5.2 Saran	104
DAFTAR PUSTAKA	105
LAMPIRAN	118



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Jeringau	12
Gambar 2.2 Bunga, Daun dan Rimpang (Curcuma mangga Val)	16
Gambar 2.3 Umbi Bawang Putih	24
Gambar 2.4 Struktur molekul senyawa radikal bebas DPPH	49
Gambar 2.5 Reduksi DPPH dari senyawa radikal bebas	49
Gambar 2.6 Candida albicans (a) pemeriksaan sputum dengan pewarnaan gra	am-
positif (b) bentuk budding yeast (c) pseudohyphae	57
Gambar 4.1 Grafik aktivitas antioksidan ekstrak etanol kombinasi dan vitami	n C
dengan % peredaman	84
Gambar 4.2 Hasil uji Cakram disk terhadap <i>Candida</i> albicans	91



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi minyak atsiri jeringau	14
Tabel 2.2 Komposisi kimia bawang putih	
Tabel 2.3 Senyawa Fitokimia Kombinasi Ekstrak etanol	37
Tabel 2.3 Proporsi Kombinasi Acorus calamus, Curcuma mangga,	dan Alliun
sativum	63
Tabel 4.1 Tabel Hasil Perhitungan Rendemen	78
Tabel 4.2 Hasil IC50 kombinasi 1, 2, 3 dan vitamin C	87
Tabel 4.3 Tabel hasil zona hambat kombinasi 1,2 dan 3	89
Tabel 4.4 Hasil Uji Khm Terhadap Candida albicans	92
Tabel 4.5 Hasil Uii KBM Terhadap Camdida albicans	93



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja	117
Lampiran 2. Uji Antioksidan dengan DPPH	
Lampiran 3. Uji Antifungi	
Lampiran 4. Pengukuran absorbansi maksimum	130
Lampiran 5. Data Optimasi Waktu	134
Lampiran 6. Grafik Optimasi Etanol Kombinasi	135
Lampiran 7. Grafik Optimasi Kontrol (VitaminC)	
Lampiran 8. Hasil pengukuran UV-VIS	136
Lampiran 9. Hasil Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan	149
Lampiran 10. Persen (%) Aktivitas Antioksidan dan IC ₅₀	149
Lampiran 11. Data Uji Antifungi Cakram Disk	150
Lampiran 12. Data Perhitungan Zona Hambat	150
Lampiran 13. Data Hasil Perhitungan Standart Deviasi (SD)	150
Lampiran 14. Data Hasil Uji KHM dan KBM	152
Lampiran 15. Dokumentasi penelitian	
Lampiran 15.1 Alat dan Bahan Preparasi Sampel	153
Lampiran 15.2 Alat dan Bahan Uji Antioksidan	155
Lampiran 15.3 Alat dan Bahan Uji Antifungi	
Lampiran 15.4 Gambar Hasil Pengukuran Antioksidan	157
Lampiran 15.5 Gambar Hasil Pengukuran Zona Hambat	158
Lampiran 15.6 Gambar Ekstrak Untuk Uji KHM dan KBM	
Lampiran 15.7 Gambar uji KHM Kombinasi 1, 2, dan 3	
Lampiran 15.8 Gambar Hasil Cakram Dari KHM Dan KBM	160

ABSTRAK

Afifah, Yuni Ma'rifatul. 2015. Potensi Antioksidan Dan Antifungi Ekstrak Etanol Kombinasi Acorus Calamus (L.), Curcuma Mangga Val, Dan Allium Sativum (Linn.) Secara In Vitro. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dr. drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si. Pembimbing Agama: Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Kata kunci: Acorus calamus L., Allium sativum Linn., Curcuma mangga Val., antioksidan, antifungi, spektrofotometri UV-VIS, Candida albicans, Cakram Kirby-Bauer, KHM, dan KBM.

Indonesia merupakan Negara tropis yang memiliki keanekaragaman sumber daya alam yang cukup tinggi. Beraneka ragamnya tumbuhan tersebut memiliki peluang besar untuk dieksplorasi manfaatnya, diantaranya untuk mengatasi masalah infertilitas. Beberapa tumbuhan yang berpotensi sebagai solusi masalah infertilitas diantaranya adalah temu mangga (*Curcuma mangga* Val), jeringau (*Acorus calamus* L.), dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.). Ketiga tumbuhan tersebut merupakan tumbuhan asli Indonesia yang memiliki potensi antioksidan dan antifungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antifungi kombinasi ramuan *Acorus calamus* L., *Curcuma mangga* Val., *dan Allium sativum* Linn. pada pelarut etanol.

Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif, dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol dan 3 kombinasi yang berbeda. Uji antioksidan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak kombinasi 1, 2, dan 3. Konsentrasi yang digunakan yakni 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm. Sedangkan untuk uji antifungi dilakukan terhadap fungi *Candida albicans* dengan metode cakram Kirby-Bauer dengan konsentrasi 100% kemudian, dilanjutkan dengan uji KHM dan KBM dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%, 0,78% dan 0,39%.

Hasil uji antioksidan metode DPPH menunjukkan besar aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ pada kombinasi secara berurutan yang menghasilkan IC₅₀ paling besar adalah kombinasi 2 yakni sebesar 42,76. Selanjutnya, terbesar yang kedua adalah kombinasi 3 yakni sebesar 47,94. Dan yang ketiga adalah kombinasi 1 yakni sebesar 61,75. Hasil uji antifungi metode cakram dengan konsentrasi 100% mampu membentuk diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yakni kombinasi 1 5.44±1.78 mm, kombinasi 2 4.08±0.86 mm, dan kombinasi 3 3.05±0.23 mm memiliki kategori sedang, Sedangkan untuk Nilai KHM di dapatkan pada konsentrasi 0.39% dan nilai KBM terdapat pada konsentrasi 0.78%.

ABSTRACT

Afifah, Yuni Ma'rifatul. 2015. The Potential of Antioxidant And Ethanol Extract Antifungal, Combination of Acorus Calamus (L.), Curcuma Mangga Val, and Allium sativum (Linn.) in a way of In Vitro. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, State Islamic University Maulana Malik Ibrahim, Malang. Advisors: Dr. DVM. Hj. Bayyinatul M., M.Sc. Islamic Advisor: Mujahideen Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Keywords: Acorus calamus L., Allium sativum Linn., Curcuma mango Val., Antioxidant, antifungal, UV-VIS spectrophotometry, Candida albicans, Kirby-Bauer disc, MIC, and MBC.

Indonesia is a tropical country that has multivarious natural high resources, especially plants. It is a great opportunity to explore the benefits of those various plants, such as to overcome the problem of infertility. Some herbs that have the potential as a solution to the problem of infertility involves temu mangga (Curcuma mango Val), Jeringau (Acorus calamus L.), and onion (Allium sativum Linn.). Those three are the origin plant of Indonesia which have the potential of antioxidant and antifungal. This study aims to know the antioxidant activity and antifungal, ingredient combination of Acorus calamus L., Curcuma mango Val., and Allium Sativum Linn. on ethanol.

This research is descriptive qualitative, extracted by maceration method with ethanol and 3 different combinations, antioxidant test was done by method DPPH towards the extraction of 1, 2, and 3 combinations. The concentration used were 25, 50, 100, 200, and 400 ppm. As for the antifungal test, it was conducted on fungi *Candida Albicans* by Kirby-Bauer Disc method with 100% concentration and then, followed by MIC and MBC test with the concentration of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78% and 0.39%.

The test results of antioxidant and DPPH showed great antioxidant activity and with IC50 on the combination in a sequence that produces the greatest IC50 is the combination 2 which was 42.76. Furthermore, the second greatest one is the combination 3 which was 47.94. And the third is the combination 1 which was 61.75. The test results by antifungal method discs with 100% concentration was capable of forming blocked zone diameter towards the growth of *Candida Albicans* were the combination $15:44 \pm 1.78$ mm, the combination $24:08 \pm 0.86$ mm, and the combination $33:05 \pm 0:23$ mm have a medium category. While for KHM value was tracked down on 0:39% concentration and KBM value was tracked down on the concentration of 0.78%.

مستخلص البحث

يوني معرفة العفيفة، 2015، طاقة ضد الأكسيد وضد فونجي من استخراج اوتانول على توحيد اجوروس جلاموس، الليوم ستفوم ليين بطريقة (In Vitro) ، البحث الجامعي، قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولى: الدكتور بينة المخترمة الماجستيرة، والمشرف الثانى: مجاهدين احمد الماجستير.

الكلمات الأساسية: اجوروس جلاموس، الليوم ستفوم ليين، جوورجوما منجا فول، ضد الأكسيد وضد فونجى، سفكتروفتومتري WH-VIS و KBM.

ان بلاد اندونيسيا هو بلاد المدار الإستوائي الذي لديها الموارد الطبيعية المتنوعة العالية. وبهذا الحال كثير من النبات فرصة كبيرا لإستكشاف فوائدها على سبيل المثال لحل المشكلات عن انفرطيليتاس واما هذا النبات ادة لحل المشكلات عن انفرطيليتاس ومنها (جوورجوما منجا فول)، (اجوروس جلاموس) وبصل (الليوم ستفوم ليين) وكل من هذا النبات هو نبات اصلي من بلاد اندونيسيا الذين لديهم ضد الأكسيد وضد فونجي.

واما الأهداف المرجوة في هذا البحث وهي لمعرفة الأنشطة من ضد الأكسيد وضد فونجي باختلاط خليطا من العقاقير اجوروس جلاموس على محلول اوتانول.

واما المدخل المستخدم في هذا البحث وهو الوصفي النوعي وجرى هذا البحث باستخدام طريقة ماسوراسي بمحلول اوتانول وثلاثة من توحيد مختلف واما في اختبار ضد الأكسيد باستخدام DPPH على استخراج التوحيد 102 و 3. وفي هذا البحث ان التركيز المستخدم وهو 25، 50، 100، و 200 و 200، و 100 و اما لإختبار ضد فونجي جرت الباحث باستخدام الطريقة kirby bauer بتركيز 20%، و 20%، 12%، 126%، 13،6%، 13،6%، 13،6%، 13،6%، 13،6%، 13،6%، 13،6%، 13،6%، 13،6%، 13،6%.

واما النتائج من اختبار ضد الأكسيد هي تدل على ان الأنشطة من ضد الأكسيد كبيرا بنتيجة $1C_{50}$ واما الأكبر في هذا البحث وهو 42،76 على توحيد ثاني ثم الأكبر الثالث وهو 61،75 على توحيد اول. والنتائج من اختبار ضذ فونجي باستخدام جكرام بتركيز 100% تشكيلا المقادير على نمو "جانديدى البجانس" وهو توحيد اول حوالى 1.08 ± 0.86 mm 1.08 ± 0.86 وهو توحيد ثاني حوالى 1.08 ± 0.86 وهو لديهم درجة متوسط واما في توحيد لنتيجة KHM تنال على تركيز 80،30% ونتيجة KBM تنال على تركيز 80،0%.



ABSTRAK

Afifah, Yuni Ma'rifatul. 2015. Potensi Antioksidan Dan Antifungi Ekstrak Etanol Kombinasi Acorus Calamus (L.), Curcuma Mangga Val, Dan Allium Sativum (Linn.) Secara In Vitro. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dr. drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si. Pembimbing Agama: Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Kata kunci: Acorus calamus L., Allium sativum Linn., Curcuma mangga Val., antioksidan, antifungi, spektrofotometri UV-VIS, Candida albicans, Cakram Kirby-Bauer, KHM, dan KBM.

Indonesia merupakan Negara tropis yang memiliki keanekaragaman sumber daya alam yang cukup tinggi. Beraneka ragamnya tumbuhan tersebut memiliki peluang besar untuk dieksplorasi manfaatnya, diantaranya untuk mengatasi masalah infertilitas. Beberapa tumbuhan yang berpotensi sebagai solusi masalah infertilitas diantaranya adalah temu mangga (*Curcuma mangga* Val), jeringau (*Acorus calamus* L.), dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.). Ketiga tumbuhan tersebut merupakan tumbuhan asli Indonesia yang memiliki potensi antioksidan dan antifungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antifungi kombinasi ramuan *Acorus calamus* L., *Curcuma mangga* Val., *dan Allium sativum* Linn. pada pelarut etanol.

Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif, dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol dan 3 kombinasi yang berbeda. Uji antioksidan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak kombinasi 1, 2, dan 3. Konsentrasi yang digunakan yakni 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm. Sedangkan untuk uji antifungi dilakukan terhadap fungi *Candida albicans* dengan metode cakram Kirby-Bauer dengan konsentrasi 100% kemudian, dilanjutkan dengan uji KHM dan KBM dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%, 0,78% dan 0,39%.

Hasil uji antioksidan metode DPPH menunjukkan besar aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ pada kombinasi secara berurutan yang menghasilkan IC₅₀ paling besar adalah kombinasi 2 yakni sebesar 42,76. Selanjutnya, terbesar yang kedua adalah kombinasi 3 yakni sebesar 47,94. Dan yang ketiga adalah kombinasi 1 yakni sebesar 61,75. Hasil uji antifungi metode cakram dengan konsentrasi 100% mampu membentuk diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yakni kombinasi 1 5.44±1.78 mm, kombinasi 2 4.08±0.86 mm, dan kombinasi 3 3.05±0.23 mm memiliki kategori sedang, Sedangkan untuk Nilai KHM di dapatkan pada konsentrasi 0.39% dan nilai KBM terdapat pada konsentrasi 0.78%.

ABSTRACT

Afifah, Yuni Ma'rifatul. 2015. The Potential of Antioxidant And Ethanol Extract Antifungal, Combination of Acorus Calamus (L.), Curcuma Mangga Val, and Allium sativum (Linn.) in a way of In Vitro. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, State Islamic University Maulana Malik Ibrahim, Malang. Advisors: Dr. DVM. Hj. Bayyinatul M., M.Sc. Islamic Advisor: Mujahideen Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Keywords: Acorus calamus L., Allium sativum Linn., Curcuma mango Val., Antioxidant, antifungal, UV-VIS spectrophotometry, Candida albicans, Kirby-Bauer disc, MIC, and MBC.

Indonesia is a tropical country that has multivarious natural high resources, especially plants. It is a great opportunity to explore the benefits of those various plants, such as to overcome the problem of infertility. Some herbs that have the potential as a solution to the problem of infertility involves temu mangga (Curcuma mango Val), Jeringau (Acorus calamus L.), and onion (Allium sativum Linn.). Those three are the origin plant of Indonesia which have the potential of antioxidant and antifungal. This study aims to know the antioxidant activity and antifungal, ingredient combination of Acorus calamus L., Curcuma mango Val., and Allium Sativum Linn. on ethanol.

This research is descriptive qualitative, extracted by maceration method with ethanol and 3 different combinations, antioxidant test was done by method DPPH towards the extraction of 1, 2, and 3 combinations. The concentration used were 25, 50, 100, 200, and 400 ppm. As for the antifungal test, it was conducted on fungi *Candida Albicans* by Kirby-Bauer Disc method with 100% concentration and then, followed by MIC and MBC test with the concentration of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78% and 0.39%.

The test results of antioxidant and DPPH showed great antioxidant activity and with IC50 on the combination in a sequence that produces the greatest IC50 is the combination 2 which was 42.76. Furthermore, the second greatest one is the combination 3 which was 47.94. And the third is the combination 1 which was 61.75. The test results by antifungal method discs with 100% concentration was capable of forming blocked zone diameter towards the growth of *Candida Albicans* were the combination 15.44 ± 1.78 mm, the combination 24.08 ± 0.86 mm, and the combination 33.05 ± 0.23 mm have a medium category. While for KHM value was tracked down on 0.39% concentration and KBM value was tracked down on the concentration of 0.78%.

مستخلص البحث

يوني معرفة العفيفة، 2015، طاقة ضد الأكسيد وضد فونجي من استخراج اوتانول على توحيد اجوروس جلاموس، الليوم ستفوم ليين بطريقة (In Vitro) ، البحث الجامعي، قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولى: الدكتور بينة المخترمة الماجستيرة، والمشرف الثانى: مجاهدين احمد الماجستير.

الكلمات الأساسية: اجوروس جلاموس، الليوم ستفوم ليين، جوورجوما منجا فول، ضد الأكسيد وضد فونجي، سفكتروفتومتري UV-VIS، جانديدي البجانس، جكرام KHM،kirby bauer و KBM.

ان بلاد اندونيسيا هو بلاد المدار الإستوائي الذي لديها الموارد الطبيعية المتنوعة العالية. وبهذا الحال كثير من النبات فرصة كبيرا لإستكشاف فوائدها على سبيل المثال لحل المشكلات عن انفرطيليتاس واما هذا النبات ادة لحل المشكلات عن انفرطيليتاس ومنها (جوورجوما منجا فول)، (اجوروس جلاموس) وبصل (الليوم ستفوم ليين) وكل من هذا النبات هو نبات اصلي من بلاد اندونيسيا الذين لديهم ضد الأكسيد وضد فونجي. واما الأهداف المرجوة في هذا البحث وهي لمعرفة الأنشطة من ضد الأكسيد وضد فونجي باختلاط خليطا من العقاقير اجوروس جلاموس على محلول اوتانول.

واما المدخل المستخدم في هذا البحث وهو الوصفي النوعي وجرى هذا البحث باستخدام DPPH طريقة ماسوراسي بمحلول اوتانول وثلاثة من توحيد مختلف. واما في اختبار ضد الأكسيد باستخدام 200، 100، وعلى استخراج التوحيد 2،1 وفي هذا البحث ان التركيز المستخدم وهو 25، 50، 50، 20% و ppm 400. واما لإختبار ضد فونجي حرت الباحث باستخدام الطريقة kirby bauer بتركيز 100% و56،1 بتركيز 50% بكرت المحتبار KBM و 35،0% و56،1 بتركيز 50% و50% و50%.

واما النتائج من اختبار ضد الأكسيد هي تدل على ان الأنشطة من ضد الأكسيد كبيرا بنتيجة $1C_{50}$. واما الأكبر في هذا البحث وهو 76.42 على توحيد ثاني ثم الأكبر الثالث وهو 75.61 على توحيد اول. والنتائج من اختبار ضذ فونجي باستخدام حكرام بتركيز 100% تشكيلا المقادير على نمو "جانديدى البحانس" وهو توحيد اول حوالى 4.08 ± 0.86 mm البحانس" وهو توحيد اول حوالى 33.05 ± 0.23 وهو لديهم درجة متوسط واما في توحيد لنتيجة 33.05 ± 0.23 تنال على تركيز 38.0%.

BABI

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Infertilitas adalah suatu kondisi tidak terjadinya kehamilan pada pasangan yang telah berhubungan seksual tanpa menggunakan kontrasepsi secara teratur dalam waktu satu tahun. Infertilitas terjadi lebih dari 20% pada populasi di Indonesia, dan dari kasus tersebut terdapat 40% pada wanita, 40% pada pria dan 20% pada keduanya dan ini yang menyebabkan pasangan suami istri tidak mendapat keturunan. Diperkirakan 85-90% pasangan yang sehat akan mendapatkan pembuahan dalam 1 tahun (Depkes, 2006).

Penyebab infertilitas salah satunya adalah adanya infeksi oleh jamur pada saluran urogenital, sehingga dapat mengganggu proses fertilisasi yang menyebabkan pasangan suami istri tidak dapat memperoleh keturunan. *Candida albicans* adalah salah satu jamur yang memicu terjadinya berbagai gangguan reproduksi. Infeksi jamur *Candida albicans* dapat menyebabkan kandidosis vaginalis (keputihan). Kandidosis vaginalis merupakan penyakit infeksi yang sering dialami oleh sebagian besar wanita. Kandidosis yang terjadi jika dibiarkan terus menerus dapat menyebabkan terjadinya infertilitas (kemandulan).

Kandidiasis Vulvovaginalis (KVV) adalah infeksi mukosa vagina dan vulva (epitel tidak terkait) yang disebabkan oleh spesies *Candida*. Penyebab terbanyak (80-90%) adalah *Candida albicans*. Jika infeksi

masih di vagina, maka disebut vaginitis. Dapat meluas sampai vulva (vulvitis) (Bindusari, 2001).

Beberapa tahun ini penyakit kandidiasis mengalami peningkatan karena faktor yang dapat mempengaruhi *Candida albicans* menjadi patogen. Hal ini disebabkan meningkatnya populasi penderita dengan gangguan kekebalan tubuh imunosupresif (HIV-AIDS), tindakan medik invasif, transplantasi organ, dan pemakaian antibiotik (Nasucha, 2007). Serta penderita yang memiliki penyakit tertentu seperti, diabetes melitus, leukemia, dapat juga meningkatkan kerentanan terhadap infeksi jamur *Candida* (Winarsih, 2011).

Penyebab lain terjadinya infertilitas adalah radikal bebas. Radikal bebas banyak dijumpai pada lingkungan, misalnya radiasi sinar UV, paparan sinar-X, peptisida dan asap rokok. Radikal bebas ini nantinya akan menyebabkan gangguan hormonal pada sistem reproduksi yang bisa menyebabkan ketidaksuburan. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel. Molekul utama di dalam tubuh yang dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak, dan protein (Suryohudoyo, 2000).

Indonesia merupakan Negara tropis yang memiliki keanekaragaman sumber daya alam yang cukup tinggi. Keanekaragaman tumbuhan di Indonesia diperkirakan tidak kurang dari 25.000 jenis. Hutan Indonesia memiliki jenis tumbuhan obat tidak kurang dari 9.606 jenis (Wulansari dan Chairul, 2011).

Beraneka ragamnya tumbuhan tersebut memiliki peluang besar untuk dieksplorasi manfaatnya. Diantaranya untuk mengatasi masalah infertilitas. Beberapa tumbuhan yang berpotensi sebagai solusi masalah infertilitas diantaranya adalah temu mangga (*Curcuma mangga* Val), jeringau (*Acorus calamus* L.), dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.). Ketiga tumbuhan tersebut merupakan tumbuhan asli Indonesia yang memiliki potensi antioksidan dan antifungi sehingga, diharapkan akan dapat mengatasi masalah infertilitas yang disebabkan oleh radikal bebas dalam tatanan seluler dan fungi dalam tatanan sistem organ dan banyak digunakan pada ramuan jamu Madura.

Manusia dan tumbuh-tumbuhan sangat erat kaitannya dalam kehidupan. Tumbuhan merupakan salah satu ciptaan Allah yang banyak sekali manfaatnya kepada manusia. Allah menciptakan tanaman dimuka bumi ini untuk dimanfaatkan sebagaimana mestinya dan sebaik-baiknya oleh manusia. Al quran menyebutkan bahwa sejumlah tumbuhan yang menurut ilmu pengetahuan modern memiliki khasiat untuk mencegah beberapa penyakit. Bahkan tumbuhan liar pun juga mempunyai potensi dalam bidang farmakologi (Mahran dan Mubasyir, 2006).

Allah menciptakan berbagai jenis tumbuhan yang bermacammacam bentuk dan warna. Tumbuhan yang bermacam-macam tersebut mengandung berbagai senyawa yang baik untuk tubuh diantaranya dapat menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Berbagai senyawa fitokimia yang terkandung di dalam tumbuhan sangat bermacam-

macam. Dan hal ini dapat di kaji dan dipelajari bagi mereka yang mau berfikir. Seperti halnya dijelaskan dalam Al Quran surat Az-Zumar ayat 21 yang berbunyi:

"Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa Sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, Maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal".

Tanaman jeringau (*Acorus calamus* L.), banyak mengandung berbagai senyawa fitokimia, salah satunya adalah minyak atsiri. Secara tradisional minyak atsiri sering digunakan sebagai bumbu pemberi cita rasa makanan dan minuman, aromaterapi, kosmetik, dan bahan pewangi. Selain itu minyak atsiri juga sering digunakan sebagai bahan aditif serta pengawet makanan dan minuman, antiinflamasi, antioksidan, antiseptik, antiserangga, serta obat berbagai jenis penyakit pada manusia dan hewan (Hartati, 2012). Sedangkan menurut Nugroho (1999), Rimpang dlingo (*Acorus calamus* L.) merupakan tumbuhan obat yang memiliki daya antibakteri dan antijamur. Ekstrak etanol rimpang dlingo dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi hambat minimum 2,5 mg/ml.

Temu mangga mengandung senyawa antioksidan, diantaranya kalkon, flavon flavanon yang cenderung larut dalam air (Setyaningrum, 2013). Ekstrak air temu mangga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga mampu menekan radikal bebas (Pujimulyani dkk., 2004), menghambat terbentuknya peroksida selama oksidasi lipid (Tedjo dkk., 2005), dan mampu berperan sebagai antialergi (Tewtrakul dan Subhadhirasakul, 2007). Senyawa curcuma pada temu mangga banyak dimanfaatkan sebagai antimikroba karena kandungan senyawa aktifnya mampu mencegah pertumbuhan mikroba.

Tanaman ini terdiri dari beberapa spesies diantaranya *Curcuma xanthorriza* (temulawak), *C. domestica* (kunyit), *C. mangga* (temu mangga), *C. zedoaria* (temu putih), *C. heyneana* (temu giring) dan *C. aeruginosa* (temu hitam) (Tjitrosoepomo, 1994). Rimpang *Curcuma* ini sering digunakan dalam pengobatan tradisonal (Hernani dan Rahardjo, 2002) diantaranya mengobati keputihan, diare, obat jerawat dan gatal-gatal (Rukmana, 2004). *Curcuma* juga berpeluang sebagai obat infeksi yang disebabkan oleh mikroba patogen seperti *C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli* (Jawetz et al., 2005). Penggunaan *Curcuma* ini sebagai obat tradisional dapat dalam bentuk ekstrak segar, seduhan, rebusan dan pemurnian (Dzulkarnain et al., 1996).

Tumbuhan bawang putih juga menpunyai sifat antioksidan dan anti fungi, hal ini sesuai dengan penelitian dari Ankri & Mirelman (1999) menyatakan, bawang putih dipakai sebagai antioksidan dan antimikroorganisme. Bawang putih memiliki manfaat banyak, bukan hanya sebagai antibakteri, antivirus, antijamur dan antiprotozoa, tetapi juga memiliki efek menguntungkan pada sistem kardiovaskular dan kekebalan tubuh. Aktivitas antimikroba bawang putih berasal dari senyawa organosulfur. Selain efek antimikroorganisme, bawang putih menunjukkan aktivitas antioksidan yang efektif secara in vivo dan in vitro. Bawang putih kaya akan senyawa organosulfur dan prekursor mereka (allicin, diallyl sulfida dan diallyl trisulfide) yang diyakini memainkan peran kunci dalam efek biologis.

Bawang putih (*Allium sativum* Linn.) memiliki manfaat dan kegunaan yang besar bagi manusia diantaranya untuk mengobati penyakit akibat fungi dan bakteri serta berbagai penyakit dalam. Dalam suatu penelitian Syamsiah (2003), menyatakan bahwa bawang putih memiliki khasiat antifungi dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* karena kandungan minyak atsirinya. *Allicin* yang terkandung dalam minyak atsiri bawang putih mempunyai kemampuan sebagai antifungi dan antibakteri.

Berdasarkan beberapa acuan hasil penelitian dan teori tersebut, maka timbul ide untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antifungi dan antioksidan ekstrak etanol kombinasi *Acorus calamus* L., *Curcuma mangga* Val. dan *Allium sativum* Linn. Pengombinasian dilakukan

karena pada masing-masing tumbuhan memiliki potensi sebagai antifungi dan antioksidan yang dibuktikan dengan penelitian-penelitian sebelumnya pada masing-masing tumbahan tersebut sehingga, diharapkan dengan pengombinasian ketiga tumbuhan tersebut yang memiliki manfaat yang sama akan lebih optimal dan terdapat aktifitas yang tinggi jika dibandingkan hanya tumbuhan individu saja.

Pelarut etanol dalam membuat ekstrak ini digunakan karena dengan pelarut etanol akan didapatkan ekstrak yg lebih murni, kental dan steril. Pembuatan ramuan kombinasi *Acorus calamus* L., *Curcuma mangga* Val. dan *Allium sativum* Linn. ini mengacu pada komponen jamu subur kandungan "JOKOTOLE" yang merupakan jamu penyubur kandungan yang dibuat oleh orang Madura.

Melalui penelitian ini diharapkan terkuaknya informasi tentang potensi bahan alam kombinasi ramuan *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val., dan *Acorus calamus* L. secara ilmiah berpotensi sebagai antifungi dan antioksidan dan sepengetahuan peneliti belum ada penelitian yang mengkombinasikan ketiga tumbuhan untuk uji antifungi dan uji antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

- Apakah kombinasi Acorus calamus L., Curcuma mangga Val., dan
 Allium sativum Linn. pada pelarut etanol berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan?
- 2. Apakah kombinasi *Acorus calamus* L., *Curcuma mangga* Val., *dan Allium sativum* Linn. pada pelarut etanol berpengaruh terhadap aktivitas antifungi?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari kombinasi *Acorus* calamus L., Curcuma mangga Val., dan Allium sativum Linn. pada pelarut etanol.
- Untuk mengetahui aktivitas antifungi dari kombinasi Acorus calamus
 L., Curcuma mangga Val., dan Allium sativum Linn. pada pelarut etanol.

1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah

- Terdapat aktivitas antioksidan dari kombinasi Acorus calamus L,
 Curcuma mangga Val., dan Allium sativum Linn. pada pelarut etanol.
- 2. Terdapat aktivitas antifungi dari kombinasi *Acorus calamus* L., *Curcuma mangga* Val., *dan Allium sativum* Linn. pada pelarut etanol.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat khusus penelitian ini adalah

- Bagi peneliti adalah mengetahui aktivitas antioksidan dan antifungi dari kombinasi ramuan Acorus calamus L, Curcuma mangga Val., dan Allium sativum Linn. pada pelarut etanol
- 2. Bagi pembaca adalah memberikan informasi tentang potensi bahan alam kombinasi ramuan *Acorus calamus* L, *Curcuma mangga* Val., *dan Allium sativum* Linn. pada pelarut etanol yang digunakan sebagai ramuan kesehatan reproduksi wanita.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi.
- 2. Pelarut organik yang digunakan adalah ethanol P.a
- 3. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm dan 400 ppm.
- 4. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antifungi adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%, 0,78% dan 0,39%
- 5. Uji aktivitas antioksidan dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH).
- 6. Fungi yang digunakan Candida albicans
- 7. Uji aktivitas antifungi dengan metode Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Metode Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

- 8. Sampel simplisia *Acorus calamus, Curcuma mangga*, dan *Allium sativum* yang digunakan didapatkan dari "Balai Materia Medika Batu"
- 9. Jamu racik sendiri dengan 3 kombinasi yaitu Kombinasi 1 (K1): *Acorus calamus* (Ac) 28%: *Curcuma mangga* (Cm) 36%: *Allium sativum* (As) 36% sedangkan, Kombinasi 2 (K1): *Acorus calamus* (Ac) 30%: *Curcuma mangga* (Cm) 30%: *Allium sativum* (As) 40%, dan Kombinasi 3 (K3): *Acorus calamus* (Ac) 25%: *Curcuma mangga* (Cm) 40%: *Allium sativum* (As) 35%.
- 10. Ramuan yang digunakan mengacu pada jamu subur kandungan "JOKOTOLE MADURA".

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tumbuhan Jeringau (Acorus calamus L.)

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. Perbanyakan 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 pinggiran sungai, rawa-rawa maupun lahan yang tergenang air sepanjang tahun, baik di Jawa. 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, pedas dan sedikit pahit tetapi tidak panas. Jika rimpang dimemarkan akan keluar bau yang lebih keras lagi karena rimpang jeringau mengandung minyak atsiri (Onasis, 2001).

2.1.1 Klasfikasi Tumbuhan Jeringau (Acorus calamus L.)

Klasifikasi *Acorus calamus* L. adalah sebagai berikut (Van Steenis, 2008):

Kingdom : Plantae

Sub Kingdom : Tracheobionta (berpembuluh)

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledonae

Bangsa : Arales

Suku : Araceae

Marga : Acorus

Spesies : Acorus calamus L.

Sinonim : Acorus terreestris Spreng.



Gambar 2.1 tumbuhan dan rimpang jeringau

Nama Daerah: Jeringau, jaringau (Indonesia), 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).

Kunci determinasi: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208a-209a. Morfologi : Habitus: Herba, tahunan, tinggi ±75cm. Batang: Basah, pendek, membentuk rimpang, putih kotor. Daun: Tunggal, bentuk 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.

Nama simplisia: Acori Rhizorna, Calami Rhizona/Rimpang Jeringau (Haryanto, 2010). Kandungan kimia : Rimpang dan daun *Acorus calamus* L. mengandung saponin dan flavonoida. Rimpangmya mengandung minyak atsiri (asaron), glikosida (akorina), akoretina, kholina, kalameona, isokalamendiol, epi-isokalamendiol, siobunona, koronana, trimetil amina, saponin, lender, aneurin, dan vitamin C.

2.1.2 Kandungan Kimia Rimpang Jeringau (Acorus calamus L.)

Rimpang (kering angin) mengandung sekitar 27% minyak atsiri dengan komposisi seperti tabel 2.1

Tabel 2.1 Komposisi minyak atsiri jeringau menurut Agusta (2000)

No.	Senyawa	Kandungan (%)
1.	Metil eugenol	1,25
2.	a-kurkuinina	1,05
3.	α-Zingiberena	3,41
4.	β-Farnesena	1,07
5.	7,11-Dimetil-3-metilena-1,6,10 dodekatriena	1,57
6.	4a,5,6,7,8a-Heksahidro-7α-isopropil 4αβ, 8αβ-dimetil 2(1H)-naftalena	0,59
7.	β-Asaron	2,70
8.	α-Asaron	79,70
9.	Asaron	4,29

Rimpang dlingo mengandung minyak atsiri, flavonoid, saponin, polifenol, gula, kolin, amilum. Kandungan minyak atsirinya terutama α -asarone dan β -asarone. Kandungan lain dari minyak atsiri adalah caryophyllene, isoasarone, methyl isoeugenol dan safrol (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

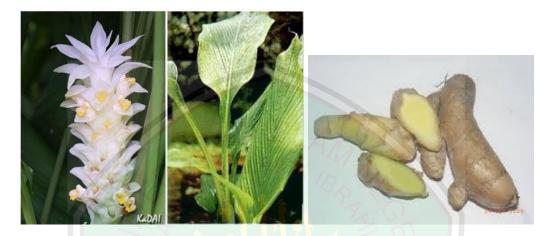
2.1.3 Khasiat Rimpang Jeringau (Acorus calamus L.)

Penelitian terhadap kandungan kimia dan aktivitas biologi dari tanaman *A. calamus* juga telah dilakukan yaitu aktivitas antelmintik dari ekstrak etanol *A. calamus* yang tumbuh di Afrika Selatan, antifungi, antioksidan, penghambatan terhadap FeCl, yang menginduksi epileptogenesis pada tikus, antihepatotoksisk dan antioksidan, antihiperlipidema dan antibakteri (Hartati, 2012). 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 all, 1999; Sa'roni, 2002).

Rimpang *Acorus calamus* berkhasiat sebagai obat penenang, lambung dan obat limpa. Jeringau juga dapat digunakan dalam ramuan yang digunakan oleh wanita selepas bersalin bersama cekur. Ia mempunyai ciri-ciri antioksidan. Selain itu, jeringau juga bermanfaat sebagai perangsang, menghilangkan sakit, menambah nafsu makan, dan tonik. Kegunaannya cukup banyak terutama untuk meredakan radang. Contoh penyakit yang dapat diatasi jerangau antara lain bengkak, kudis, limpa bengkak, cacar sapi, mimisan, demam, dan lainnya (Hartati, 2012).

2.2 Deskripsi Tumbuhan Temu Mangga (Curcuma mangga Val.)

Tanaman temu mangga termasuk tanaman tahunan yang bersosok semak. Tingginya sekitar 50 sampai 75 cm. Temu mangga ini memiliki bagian-bagian tumbuhan seperti rimpang, akar, batang, daun dan bunga.



Gambar 2.2 Bunga, daun dan rimpang (*Curcuma mangga* Val) (Ismayani, 2012).

Rimpangnya terasa manis diselingi sedikit rasa agak pahit-pahit. Tetapi tetap segar dan pastinya berkhasiat. Ciri khas tanaman ini adalah rimpangnya (yang berwarna kuning dan berbintik seperti jahe) memiliki bau khas seperti bau mangga. Herba dengan rimpang bercabang, bagian luar kekuningan, bagian atas putih, bagian dalam berwarna kuning lemon sampai kuning seperti sulfur dengan warna putih di bagian layer. Kulit rimpang berwarna putih kekuningan pada kondisi segar dan menjadi kuning pada kondisi kering (Sudewo, 2006)

Sistem perakaran tanaman termasuk akar serabut. Akar melekat dan keluar dari rimpang induk. Panjang akar sekitar 25 cm dan letaknya tidak

beraturan Tingginya sekitar 50 sampai 75 cm dan berwarna putih (Hariana, 2006).

Batang semu, tegak, lunak, batang di dalam tanah membentuk rimpang, hijau. Susunan daun tunggal, berpelepah, lonjong, tepi rata, ujung dan pangkal meruncing, panjang ± 1 m, lebar 10-20 cm, pertulangan menyirip, hijau. Pelepah daun panjang 30-65 cm, daun lonjong-menjorong sampai lonjong-melanset sungsang, 15-95 cm x 5-23 cm, hijau; Daunnya berbentuk bulat agak lonjong dengan panjang daun sekitar 30 sampai 45 cm dan lebarnya 7,5 sampai 13 cm. (Sudewo, 2006).

Bunga temu mangga muncul dari bagian ujung batangnya. Pembungaan pada tunas yang tersendiri, daun gagang hijau, daun gagang yang menyerupai bunga (*coma bracts*) putih di bagian dasar, ungu ke arah atas; Mahkota: panjang 3-4 cm, putih; labellum (bibir bunga) 15-25 mm x 14-18 mm, putih dengan pita tengah kuning, staminodes yang lain lipatan membujur, putih, Kepala sari panjang, dengan taji sempit. Terbelah, benang sari menernpel pada mahkota, putih, putik silindris, kepala putik bulat, kuning, mahkota lonjong, putih. Buah: Kotak, bulat, hijau kekuningan. Sedangkan bijinya: Bulat dan coklat (Hariana, 2006).

2.2.1 Klasfikasi Tumbuhan temu mangga (Curcuma mangga Val).

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. (Van Steenis, 2008)

Nama Simplisia : Curcumae manggae Rhizome/ Rimpang Temu Mangga.

Kunci Determinasi: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109a-

110b-111b-112a-113b-116a-119b-120b-128b-129a-130b-132a.

2.2.2 Nama Lain

Temu Mangga, Kunyit Putih, Kunir Putih, Temu Bayangan, Temu Poh (Jawa), Temu Pauh (Malaysia), Kha Min Khao (Thailand), Temu Pao (Madura), Temu Mangga, Temu Putih (Melayu), Koneng Joho, Koneng Lalap, Konneng Pare, Koneng lalab (Sunda) (Hariana, 2006).

2.2.3 Habitat dan persebaran

Temu mangga (*Curcuma mangga* Val) merupakan salah satu jenis temu yang tumbuh di Indonesia. Selain di Indonesia, temu mangga juga dijumpai di daerah sekitar ekuatorial lainnya seperti Malaysia (dikenal dengan sebutan temu pauh) dan Thailand (kha min khao) (Tedjo, 2005). Penyebaran yang diketahui dari tanaman ini adalah ditanam (dikultivasi) di Thailand, Semenanjung Malaysia dan Jawa. *Curcuma mangga* Val dikultivasi di tanah yang subur, dengan ketinggian di atas 1000 m dpl. Habitus: Semak, tinggi 1-2

m. Batang: Semu, tegak, lunak, batang didalam tanah membentuk rimpang hijau. Daun: Tunggal, berpelepah, lonjong, tepi rata, ujung dan pangkal meruncing, panjang ±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.

Cara pembiakan tanaman ini adalah dengan rimpang atau anakan rimpang yang telah berumur 9 bulan. Pembiakan dengan rimpang muda akan mudah terserang penyakit. Tanaman ini tumbuh subur jika ditanam di media tanam atau tanah gembur yang mengandung bahan organik tinggi dan sinar matahari yang cukup atau di tempat yang terlindung (Sudewo, 2006).

Temu mangga seperti halnya temu-temuan lain dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik di dataran rendah sampai pada ketinggian 1000 m di atas permukaan air laut, dan ketinggian optimum 300-500 m. Kondisi iklim yang sesuai untuk budidaya temu mangga yaitu dengan curah hujan 1000-2000 mm (Gusmaini *et al.*, 2004).

Temu mangga seperti halnya temu-temuan lain dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik di dataran rendah sampai pada ketinggian 1000 m di atas permukaan laut (dpl), dan ketinggian optimum 300 – 500 m dpl (Bautistuta dan Aycardo, 1979; PCARR, 1980). Kondisi iklim yang sesuai untuk budidaya temu mangga yaitu dengan curah hujan 1000 – 2000 mm (Purseglove *et al.*, 1981), baik ditanam pada kondisi dengan sedikit naungan

hingga terbuka penuh (Effendi dan Emmyzar, 1997), tumbuh pada berbagai jenis tanah, untuk menghasilkan produksi yang maksimal membutuhkan tanah dengan kondisi yang subur, banyak bahan organik, gembur dan berdrainase baik (tidak tergenang) (Sudiarto *et al.*, 1998).

2.2.4 Kandungan Kimia temu mangga (Curcuma mangga Val)

Curcuma mangga Val., kaya akan kandungan kimia seperti tanin, kurkumin, amilum, gula, minyak asiri, damar, saponin, flavonoid, dan protein toksis yang dapat menghambat perkembangbiakan sel kanker. Disamping itu daunnya juga mengandung polifenol (Hariana, 2006). Selain itu, tanaman ini juga mengandung 2-norbornane, 3-methylene, caryophylenoxide, cyclopentane acetaldehyde, caryophylen, dan cinnamytiglate. Menurut hasil determinasi di Materia Medika rimpang temu mangga rhizome ini mengandung senyawa diantaranya saponin dan flavonoid, di samping itu daunnya juga mengandung polifenol.

Sifat antibakteri dalam rimpang kunyit disebabkan oleh kandungan kimia utamanya, yaitu kurkuminoid dan minyak atsiri. Kurkuminoid berkhasiat menetralkan racun, menghilangkan rasa nyeri sendi, menurunkan kadar kolesterol dan triasilgliseril darah, antibakteri, dan sebagai antioksidan penangkal senyawa-senyawa radikal bebas yang berbahaya. Minyak atsiri pada rimpang kunyit berkhasiat sebagai *cholagogum*, yaitu bahan yang dapat merangsang pengeluaran cairan empedu yang berfungsi sebagai penambah nafsu makan dan antispasmodicum, yaitu menenangkan dan mengembalikan kekejangan otot (Liang *et al.* 1985).

Komponen utama rimpang temu mangga yang ditemukan sejauh ini adalah myrcene (81,4%), Minyak asiri (0,28%), dan kurkuminoid (3%). Untuk komponen utama minyak atsiri temu mangga adalah golongan monoterpen hidrokarbon, dengan komponen utamanya mirsen (78,6%), β-osimen (5,1%), β-pinen (3,7%) dan α-pinen (2,9%), dan senyawa yang memberikan aroma seperti mangga adalah δ-3-karen dan (Z)-β-osimen (Hernani dan Suhirman, 2001).

Kandungan kimia lainnya *curcumanggoside*, bersama dengan sembilan senyawa yang dikenal, termasuk labda-8, 12-diena-15,16-dial, calcaratarin A, zerumin B, scopoletin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, curcumin, dan asam p-hydroxycinnamic yang telah diisolasi dari rimpang *Curcuma mangga* Val. (Abas *et al.*, 2005).

2.2.5 Khasiat Rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.)

Temu mangga berkhasiat sebagai penurun panas (antipiretik), penangkal racun (antitoksik), pencahar (laksatif), dan antioksidan. Khasiat lainnya untuk mengatasi kanker, sakit perut, mengecilkan rahim setelah melahirkan, mengurangi lemak perut, menambah nafsu makan, menguatkan syahwat, gatal-gatal pada vagina, gatal-gatal (pruritis), luka, sesak napas (asma), radang saluran napas (bronkitis), demam, kembung, dan masuk angin (Hariana, 2006).

Temu mangga mengandung bahan aktif triterpenoid saponin. Dalam kajian fertilitas, komposisi triterpenoid saponin ini sangat dibutuhkan untuk melindungi sel-sel granulosa. Hal tersebut dikarenakan pada sel-sel granulosa

terdapat reseptor-reseptor hormon LH-FSH. Sebagaimana yang dinyatakan oleh Suheimi (2007), bahwa reseptor FSH hanya ditemukan di sel-sel granulosa yang penting untuk mengendalikan perkembangan folikel. Selain FSH sebagai regulator utama perkembangan folikel dominan, growt faktor yang dihasilkan oleh folikel dapat bekerja melalui mekanisme autokrin dan parakrin, memodulasi kerja FSH, dan menjadi faktor penting yang berpengaruh.

Apabila ditinjau dari kajian antifertilitas, bahan aktif steroid dan triterpenoid diduga sebagai bahan aktif yang bekerja sebagai faktor antifertilitas. Hal tersebut dikarenakan kedua bahan aktif tersebut diduga mampu mengakibatkan gangguan pada jalur hipotalamus hipofise yang selanjutnya mengakibatkan gangguan sekresi GnRH yang kemudian akan berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel (Limbong, 2007).

2.3 Deskripsi Tumbuhan Bawang Putih (Allium sativum)

Bawang putih merupakan sejenis tanaman seledri yang mempunyai rasa seperti lobak. Benihnya berlendir dan dapat tumbuh di air. Tanaman ini dapat tumbuh di seluruh dunia serta memiliki nilai jual tinggi (Thomson, 2007). Menurut Suriana (2011) tanaman bawang putih juga merupakan tanaman semusim yang tumbuh tegak dan berumpun. Tanaman ini dapat tumbuh meninggi hingga mencapai 30-60 cm. Bagian-bagian tanaman ini

meliputi akar, cakram (yang berfungsi sebagai batang tidak sempurna), umbi dan daun.

Bawang putih adalah salah satu tanaman tertua dari semua tanaman budidaya. Telah digunakan sebagai bumbu, makanan dan banyak terdapat pada cerita rakyat untuk obat selama lebih dari 4000 tahun, dan merupakan salah satu tanaman obat yang paling banyak diteliti. Codex Ebers, sebuah buku kuno resep medis dari Mesir sekitar 1550 SM menyebutkan adanya 22 formulasi terapi yang menyebutkan bawang putih sebagai obat yang efektif untuk berbagai penyakit terasuk gangguan jantung, sakit kepala, gigitan, parasit dan tumor (Thomson dan Ali, 2003).

Menurut Arisandi dan Andriani (2008) bawang putih (*Allium sativum*) termasuk genus allium atau di Indonesia lazim disebut bawang putih. Bawang putih termasuk klasifikasi tumbuhan terna berumbi lapis yang bersusun. 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.

Tanaman bawang putih ini dapat tumbuh di seluruh dunia yang awalnya dianggap berasal dari Asia Tengah sampai Selatan. Biasanya pada

tanah yang bertekstur lempung atau berpasir ringan. Dimana jenis tanah yang cocok untuk tanaman bawang putih adalah jenis tanah grumusol (ultisol) (Kemper, 2000). Menurut Arisandi dan Andriani (2008) bawang putih (*Allim sativum*) salah satu syarat tumbuhnya adalah ditanam pada jenis tanah gromosol (ultisol), teksturnya berlempung pasir (gembur) dan *drainase* baik dengan kedalaman air tanah 50 cm-150 cm dari permukaan tanah dengan keasaman (pH) adalah 6-6,8.

2.3.1 Klasfikasi Tumbuhan Bawang Putih (Allium sativum)

Klasifikasi bawang putih (*Allium sativum*) adalah sebagai berikut (Van Steenis, 2008):

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Sub Kingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpempuluh)

Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas : Monocotyledonae

Bangsa : Liliales

Suku : Liliaceae

Marga : Allium

Jenis : *Allium sativum* Linn. Gambar 2.3 Umbi bawang putih

Nama umum dari bawang putih (*Allium sativum* Linn.) diantaranya garlic (Inggris), bawang putih (Indonesia), bawang (Jawa), bawang bodas (Sunda), bawang handak (Lampung), kasuna (Bali), lasuna pute (Bugis), bhabang pote (Madura), bawang bodudo (Ternate), kalfeo foleu (Timor).

Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109a-110b-111a-112s-113b-116a-119b-120b-128b-129b-135b-136a-137b.

Bawang putih (*Allium sativum* Linn.) memiliki habitus herba, semusim, tinggi 40-60 cm, berumbi lapis atau siung yang bersusun kulit tipis berwarna putih. Batang semu yang terbentuk dari pelepah-pelepah daun. Daunnya tunggal,memeluk umbi lapis, bentuk mirip pita, putih dan memanjang. Bunga majemuk, bentuk bongkol, bertangkai silindris, panjang ±40 cm, hijau, benang sari enam, tangkai sari putih, kepala sari hijau, putik menancap pada dasar bunga, mahkota bentuk bulat telur, ujung runcing, tengahnya bergaris putih. Buah batu, bulat, hijau. Biji segitiga, hitam. Akar serabut, putih. Nama simplisia yakni Alli Sativa Bulbus/ Umbi Lapis Bawang Putih.

2.3.2 Kandungan Kimia Bawang Putih (Allium sativum Linn.)

Bawang putih (*Allium sativum* Linn.) mengandung senyawa antimikroba yang telah banyak digunakan oleh masyarakat. Bawang putih memiliki kandungan kimia seperti karbohidrat, protein, sterol, saponin, alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid (Safithri 2004). Bawang putih terdapat zat gizi atau nutrient yaitu zat aliin. zat aliin selanjutnya akan menjadi alisin, sedangkan bau yang menyengat pada bawang putih merupakan bau sulfur atau belerang yang terkandung di dalam alisin. Alisin sendiri mempunyai fungsi fisiologis yang sangat banyak, yaitu sebagai antioksidan, antikanker, antitrombotik, antiradang, penurun tekanan darah dan penurun kolesterol.

Senyawa alisin juga bermanfaat menghancurkan pembekuan pada pembuluh darah penyebab diabetes (Basyier, 2011).

Komponen utama bawang putih tidak berbau, disebut komplek sativumin, yang diabsorbsi oleh glukosa dalam bentuk aslinya untuk mencegah proses dekomposisi. Dekomposisi komplek sativumin akan menghasilkan bau khas yang tidak sedap dari *Allyl sulfide*, *allyl disulfide*, *allyl mercaptane*, *alun allicin*, dan *alliin*. Komponen kimia ini mengandung sulfur, yang merupakan komponen penting dalam kandungan bawang putih. Bila dilakukan penyulingan uap dengan suhu 100° C pada bawang putih akan didapatkan minyak atsiri bawang putih dengan kandungan utama *diallyl disulfide*.

Senyawa lain yang terdapat dalam bawang putih adalah alil. Senyawa alil bermanfaat untuk memerangi penyakit degeneratif dan mengaktifkan pembentukan sel-sel baru. Bawang putih mengandung kalsium (bersifat menenangkan sehingga cocok untuk penderita hipertensi), *saltivine* (bisa mempercepat pertumbuhan sel dan jaringan serta merangsang susunan sel saraf), *diallysulfide-alipropil-sulfida* (anti cacing), belerang, protein, lemak, fosfor, besi, vitamin (A, B1, dan C) (Basyier, 2011).

Tabel 2.2 Komposisi kimia bawang putih per 100 gram (Solihin, 2009)

No.	Komposisi	Satuan
1.	Protein	4,5 gram
2.	Lemak	0,20 gram
3.	Hidrat arang	23,10 gram
4.	Vitamin B1	0,22 miligram
5.	Vitamin C	15 miligram
6.	Kalori	95 kalori
7.	Posfor	134 miligram
8.	Kalsium	42 miligram
9.	Besi	1 miligram
10.	Air	71 gram

Dari beberapa penelitian umbi bawang putih mengandung zat aktif awcin, awn, enzim alinase, germanium (mencegah rusaknya darah merah), sativine (mempercepat pertumbuhan sel dan jaringan serta merangsang susunan sel saraf), sinistrine, selenium (mikromineral penting yang berfungsi sebagai antioksidan), scordinin (antioksidan), nicotinic acid. Kandungan allisin pada bawang putih bermanfaat sebagai bakterisida dan fungisida. Senyawa ini memiliki sifat bakterisida dan menghambat perkembangan cendawan maupun mikroba lainnya (Solihin, 2009).

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

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

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*, *vinyldithiines*, *S-allylmercaptocystein*, dan lainnya. Selain itu juga terdapat enzim-enzim antara lain: *allinase*, *peroxides*, *myrosinase* dan lain-lain (Kemper, 2000).

2.3.3 Khasiat Bawang Putih (Allium sativum Linn.)

Bawang adalah tanaman yang secara khusus disebutkan dalam Al Quran surat Al Baqarah 61 sebagai berikut :

"Sebab itu mohonkanlah untuk kami kepada Tuhanmu, agar dia mengeluarkan bagi kami dari apa yang ditumbuhkan bumi, yaitu sayurmayurnya, ketimunnya, bawang putihnya, kacang adasnya, dan bawang merahnya".

Jika kita perhatikan ayat diatas Allah menyebutkan secara spesifik beberapa tumbuhan diantaranya ketimun, bawang putih, kacang adas, dan bawang merah. Penyebutan nama-nama tersebut tentu tidak sembarangan. Melainkan Allah memiliki tujuan yang penuh dengan hikmah didalamnya.

Sebagaimana sifat Allah الحَكِيْمُ dan الْحَكِيْمُ Maha mengetahui dan Maha bijaksana. Sehingga, dapat dipastikan bahwa tumbuhan-tumbuhan yang namanya tidak disebutkan secara khusus didalam Al quran pasti memiliki manfaat. Apalagi yang disebutkan secara khusus dalam Al quran.

Khususnya untuk bawang putih, penelitian ilmiah modern membuktikan bahwa tanaman ini memiliki beberapa khasiat diantaranya 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, babi, glutamine, prolin, glisin, alanin, sistein, valin, metionin, isoleusin, leusin, triptofan dan fenilalanin (Thomson dan Ali, 2003; Gebreyohannes, 2013).

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*) (Gebreyohannes, 2013).

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).

Allah menciptakan segala sesuatu didunia ini tidaklah sia-sia baik itu kecil maupun besar. Semua makhluk hidup baik itu hewan, tumbuhan, dan lain-lainnya pasti ada manfaatnya yang dapat diambil oleh manusia jika manusia tersebut mau berfikir. Seperti tumbuhan Acorus calamus L. yang diketahui ternyata memliliki komponen senyawa seperti minyak atsiri, Curcuma manggae Val. yang mempunyai komponen senyawa kalkon, flavon flavanon dan Allium sativum Linn. yang mempunyai senyawa Allicin sebagai antifungi dan antioksidan. Allah menjaga semua ciptaannya agar tetap hidup yakni dengan Allah menurunkan air hujan sebagai sumber kehidupan bagi semua makhluk Allah yang ada di bumi agar manusia bersyukur atas nikmat Allah yang dikaruniakan kepadanya. Seperti dalam firman Allah dalam surat Al An'am ayat 99:

وَهُو ٱلَّذِىٓ أَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَآءِ مَآءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ عَنَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا خُنْرِجُ مِنْ أَعْنَابٍ وَٱلزَّيْتُونَ مِنْهُ حَبَّا مُّتَرَاكِبًا وَمِنَ ٱلنَّحْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانُ دَانِيَةٌ وَجَنَّتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَٱلزَّيْتُونَ وَٱلزَّيْتُونَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ أَنظُرُواْ إِلَىٰ ثَمَرِهِ آ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ آ إِنَّ فِي ذَالِكُمْ لَايَتِ لِقَوْمِ يُؤْمِنُونَ هَا وَعَيْرَ مُتَشَبِهٍ أَنظُرُواْ إِلَىٰ ثَمَرِهِ آ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ آ إِنَّ فِي ذَالِكُمْ لَايَتِ لِقَوْمِ يُؤْمِنُونَ هَا اللَّهُ مَنْ مَا اللَّهُ الللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ الللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ الللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ الللللَّهُ الللَّهُ الللَّهُ الللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ الللَّ

"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 akan kebesaran dan tanda-tanda kekuasaan Allah 👺 yang ada dibumi khususnya tumbuh-tumbuhan. Menurut tafsir Imani (2005) dijelaskan bahwa Allah e telah menciptakan segala macam tanaman sebagai tanda-tanda kekuasaan Allah 👺 dan sebagai bahan berfikir agar tercipta kemaslahatan umat. Semua jenis tumbuhan menyerap dan tumbuh dengan air, sinar matahari, karbon, hydrogen, fosforus, sulfur, kalium, magnesium, dan besi. Tanah merupakan unsur makanan dan nutrisi yang dapat menumbuhkan biji-bijian yang sangat kecil menjadi ribuan jenis tumbuh-tumbuhan terlihat dari modifikasi tumbuh-tumbuhan sesuai dengan berbagai kondisi lingkungan. Setiap tumbuhan memiliki susunan dan bentuk yang berbeda-beda dengan tumbuhan yang lainnya. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah tentunya memiliki berbagai kegunaan dan khasiat yang berbeda-beda. Misalnya tanaman padi dan jagung yang digunakan sebagai sumber makanan pokok dan ada juga tumbuhan yang digunakan sebagai tanaman obat seperti penggunaan tumbuhan temu manga, jeringau, dan bawang putih yang digunakan sebagai kombinasi komponen jamu untuk mengatasi masalah kesehatan reproduksi. Penjelasan diatas didukung oleh firman Allah e dalam surat Lukman ayat 10 yang berbunyi:

"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 diatas kata "گرنج" 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 anugrah Allah yang harus dipelajari dan dimanfaatkan, tidak terkecuali tanaman tumbuhan temu manga, jeringau, dan bawang putih. Untuk mengetahui tumbuhan tersebut sebagai obat maka diperlukan penelitian sebagai bentuk pendidikan Allah kepada hambanya agar manusia menggunakan akalnya karena bagaimanapun juga ketika Allah menurunkan obat, tidak semuanya dalam bentuk instan. Sebagaimana sabda Rasulullah dari Ibnu mas'ud bahwa Rasulullah bersabda:

إِنَّ اللهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلاَّ أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهِلَهُ مَنْ جَهِلَهُ

"Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya." (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim, beliau menshahihkannya dan disepakati oleh Adz-Dzahabi. Al-Bushiri menshahihkan hadits ini dalam Zawa`id-nya. Lihat takhrij Al-Arnauth atas Zadul Ma'ad, 4/12-13) (Farooqi, 2005)

Hadist di atas menunjukkan bahwa Allah Maha Adil yang menciptakan sesuatu penyakit beserta obatnya, hal itu akan diketahui manusia dengan adanya ilmu. Ilmu pengetahuanlah yang menuntun manusia untuk menemukan obat-obatan dari suatu penyakit. Jika manusia tidak

mengembangkan ilmu pengetahuan maka tidak akan pernah tahu bahwa Allah telah menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Ada berbagai obat yang telah tersedia di alam dan sering kali di sebut tanaman (herbal) termasuk tanaman yang dijadikan komponen jamu ini.

2.4 Metode Ekstraksi dengan Meserasi

Ekstraksi adalah suatu proses penyaringan senyawa kimia yang terdapat di dalam bahan alam atau dari dalam sel dengan menggunakan pelarut dan metode yang tepat. Sedangkan ekstrak adalah hasil dari proses ekstraksi, bahan yang diekstraksi merupakan bahan alam. (Emilan, dkk. 2011).

Ekstrak adalah zat sediaan kering, kental, atau cair yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut dan dua cara yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi yang telah ditetapkan (Emilan, dkk. 2011).

Prinsip ekstraksi adalah melarutkan dan menarik senyawa dengan menggunakan pelarut yang tepat. Ada tida tahapan proses pada waktu ekstraksi yaitu (Emilan, dkk. 2011).

- 1. Penetrasi pelarut ke dalam sel tanaman dengan pengembangan sel.
- 2. Disolusi pelarut ke dalam sel tanaman dan pengembangan sel.
- 3. Difusi bahan yang terekstraksi ke luar sel.

Proses di atas diharapkan terjadinya kesetimbangan antara zat terlarut dan zat pelarut. Kecepatan untuk mencapai kesetimbangan umumnya

tergantung pada suhu, pH, ukuran partikel, dan gerakan partikel. Prinsip yang utama adalah berkaitan dengan kelarutan, yaitu senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar akan mudah larut dalam pelarut nonpolar.

Ada berbagai macam metode ekstraksi, diantaranya adalah (Warsiati, 2010):

A. Cara dingin

1. Meserasi

Meserasi adalah suatu metode ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (kamar). Selanjutnya diuapkan maserat pada tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga konsistensi yang dikehendaki. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip pencapaian konsentrasi pada keseimbangan.

Setiap pelarut memiliki tingakat kepolaran yang berbeda-beda yang akan menentukan selektivitas dalam mengekstrak komponen-komponen bioaktif yang terdapat pada rimpang jeringau, rimpang temu manga dan umbi bawang putih. Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid, kuarter, komponen fenolik, karotenoid, tannin, gula, asam amino, dan glikosida. Pelarut yang semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon, dan glikosida. Pelarut yang bersifat non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid, dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987).

Nilai rendemen ekstraksi ekstrak yang dihasilkan akan menunjukkan sifat kepolaran suatu komponen bioaktif yang terekstrak oleh pelarut yang digunakan. Metode ekstraksi sangat mempangaruhi nilai rendemen ekstraksi yang digunakan. Ekstraksi dengan cara meserasi tanpa pemanasan akan menghasilkan nilai rendemen ekstraksi yang rendah dibandingkan maserasi dengan cara pemanasan. Ekstraksi dengan cara pemanasan akan meningkatkan kelarutan ekstrak sehingga bahan yang terekstrak akan lebih banyak dibandingkan ekstraksi tanpa pemanasan (Pambayunan, dkk. 2007).

2. Perlokasi

Perlokasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umunnya dilakukan pada temperature ruangan.

B. Cara panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendingin balik

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperature ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40° - 50° C

4. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air. Pada temperature penangas air (bejana infus tercelup delam penangas air mendidih, temperature terukur 90° C selama waktu tertentu yaitu 15 menit).

5. Dekok

Dekok adalah infus waktu yang lebih lama yaitu pada suhu 30°C dan temperature sampai titik air.

2.5 Kandungan Senyawa Fitokimia pada Kombinasi Acorus calamus, Curcuma mangga, dan Allium sativum.

Tabel 2.3 Senyawa Fitokimia Kombinasi Ekstrak Etanol

Golongan senyawa	Pereaksi Uji	Ekstrak Kombinasi
Alkaloid	Dragendorff	+
	Mayer	-
Flavonoid	Wilstater	+
Triterpenoid	Lieberman-	+
25/1	Burchard	
Steroid	Lieberman-	-
	Burchard	
Saponin	Forth	~ -
Tanin	FeCl ₃	

Keterangan: tanda + : positif terhadap senyawa/terbentuk warna

Tanda - : negatif terhadap senyawa/tidak terbentuk warna (Azzahra, 2015)

Uji fitokimia terhadap ekstrak etanol kombinasi merupakan langkah awal yang dapat membantu untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam masingmasing ekstrak. Secara umum dapat dikatakan bahwa metodenya sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna (*spot test*) dengan suatu pereaksi warna. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin dan tannin (Azzahra, 2015).

Senyawa golongan flavonoid termasuk senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar. Etanol sebagai pelarut dapat

memperbaiki atau mempertahankan sifat dan karakteristik bahan terlarut dan mampu mengendapkan zat-zat yang terkandung dalam bahan. Etanol banyak digunakan sebagai pelarut karena etanol relatif aman digunakan untuk bahan-bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia. Etanol dipilih sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut yang bersifat polar, yang artinya dapat melarutkan senyawa polar dan etanol bisa bercampur dengan air yang juga bersifat polar. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar suatu senyawa. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya sehingga akan mempengaruhi sifat fisikokimia ekstraksi yang dihasilkan (Sudarmadji, 2003).

Menurut Harborne (1987) etanol merupakan pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan, sementara Departemen Kesehatan merekomendasikan etanol sebagai cairan penyari ekstrak untuk keperluan bahan baku obat tradisional. Sinambela (2003) menyatakan ekstraksi bahan tumbuhan obat dengan pelarut yang sesuai (etanol) menjadi ekstrak cair atau ekstrak kering banyak dilakukan untuk tujuan standarisasi sediaan obat herba sekaligus memberi keuntungan dari segi formulasi sediaannya dengan standard tertentu. Etanol merupakan pelarut yang aman, tidak mudah terbakar dan inert.

2.6 Radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan bersifat reaktif. Suatu atom atau molekul akan tetao stabil bila elektronnya berpasangan, untuk mencapai kondisi stabil tersebut, radikal bebas dapat menyerang bagian tubuh seperti sel, sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel tersebut dan berimbas pada kinerja sel, jaringan dan akhirnya pada proses metabolism tubuh. Radikal bebas dapat berasal dari tubuh makhluk hidup itu sendiri sebagai akibat aktivitas tubuh seperti aktivitas autooksidasi, oksidasi enzimatik, organel subseluler, aktivitas ion logam transisi, dan berbagai sistem enzim lainnya (Fessenden & Fessenden, 1986; Darmawan & Artati, 2009).

Secara umum sunber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaituendogen dan eksogen. Radikal bebas endoen dapat terbentuk melalui autooksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transfor electron di mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar sistem tubuh, misalnya sinar UV. Di samping itu, radikal bebas eksogen dapat berasal dari aktivitas lingkungan. menurut Supari (1996), aktivitas lingkungan yang dapat memunculkan radikal bebas antara lain radiasi, polusi, asap rokok, makanan, minuman, ozon dan peptisida. Terbentuknya senyawa radikal, baik radikal bebas endogen maupun eksogen terjadi melalui sederetan reaksi.mula-mula terjadi pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu

perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi), dan tahap terakhir yaitu pemusnahan atau pengubahan senyawa radikal menjadi non radikal (terminasi).

Radikal bebas yang beredar dalam tybuh berusaha untuk mencuri electron yang ada pada molekul lain seperti DNA dan sel. Pencurian jika berhasil akan merusak sel dan DNA tersebut. Dapat dibayangkan jika radikal bebas banyak beredar maka akan banyak pula sel yang rusak. Kerusakan yang ditimbulkan dapat menyebabkan sel tersebut menjadi tidak dtabil yang berpotensi mempercepat proses penuaan dan kangker (Rohmatussilihat, 2009).

Radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya berperan dalam pemeliharaan kesehatan karena sifatnya yang reaktif untuk mengikat atau bereaksi dengan molekul asing yang masuk ke dalam tubuh. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan dalam tubuh dapat menyebabkan terganggunya sistem metabolism, hal ini diakibatkan karena sifat radikal bebas yang dapat menyerang lipid, DNA (deoxyribo necloid acid), dan protein komponen sel dan jaringan (Darmawan & Artati, 2009).

2.7 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell, 1990). Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) (Continuing Profesional Development Dokter Indonesia, 2008).

Antioksidan merupakan substansi penting yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredamnya. Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok umur (Winarsi, 2007).

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 bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan

penangkap radikal sehingga potensi propagasinya rendah. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan cara (Winarsi, 2007):

- 1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
- Menginaktivasi atau menangkap radikal bebas dan memotong propagasi (pemutusan rantai).
- 3. Memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas.

Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non nutrisi yang terkandung dalam bahan pangan, mampu mencegah atau memperlambat terjadinya kerusakan oksidatif dalam tubuh. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Senyawa ini mempunyai berat molekul kecil tapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007).

Tamat et al., (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, mem-perlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan. Tubuh manusia mempunyai sistem antioksidan yang diproduksi terus menerus untuk menangkal atau meredam radikal bebas, seperti enzim superoksida dismutase, katalase dan glutation peroksidase. Bila jumlah senyawa radikal bebas melebihi jumlah antioksidan alami dalam tubuh maka radikal

bebas akan menyerang komponen lipid, protein dan DNA. Sehingga tubuh kita membutuhkan asupan antioksidan yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas tersebut (Prakash, 2001; Winarsi, 2007; Hapsari, 2008).

2.7.1 Sumber-sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami (Isnindar, Wahyuono,& Setyowati, 2011).

2.7.1.1 Antioksidan Alami

Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Antioksidan alami umumnya menpunyai gugus hidroksil dalam struktur molekulnya. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asamorganik polifungsional (Isnindar, Wahyuono,& Setyowati, 2011).

Senyawa fenolik tersebar di seluruh bagian tumbuhan baik pada kayu, biji, daun, buah, akar, bunga, maupun serbuk sari. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan belakangan ini banyak diteliti,karena flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra, Tarigan, & Sihotang, 2008). Senyawakimia tergolong antioksidan dan dapat ditemukan decara alami diantaranya adlah asam ellagic, proantosianidin, polifenol, karotenoid, astaxanthin, tokoferol, dan glutation.

2.7.1.2 Antioksidan Sintetik

Antioksidan sintetik yang diizinkan dan umum digunakan untuk makanan yaitu BHA (*Butylated Hydroxy anisole*), BHT (*Butylated Hydroxytoluene*), dan profil galat. Pada saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena beberapa antioksidan terbukti bersifat karsinogenik dan beracun terhadap hewan percobaan (Zuhra, Tarigan, & Sihotang, 2008).

Telah dilaporkan bahwa penggunaan BHA (*Butylated Hydroxy anisole*) dan BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) dapat menimbulkan akibat buruk terhadap kesehatan manusia yaitu gangguan fungsi hati,paru, mukosa usus, dan keracunan. Penggunaan antioksidan sintetik dapat menimbulkan keracunan pada dosis tertentu, menurut rekomendasi food dan Drug Administration dosis antioksidan sintetik yang siizinkan dalam pangan adalah 0,01%-0,1% (Panagan, 2011).

2.7.2 Manfaat Antioksidan

Antioksidan penting untuk kesehatan dan kecantikan serta mempertahankan mutu produk pangan. Di bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker, tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat et al., 2007). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering

terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007).

Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, atero-sklerosis, osteoporosis dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok umur (Winarsi, 2007).

Antioksidan sangat penting sebagai inhibitor peroksidasi lipid sehingga dapat digunakan untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada bahan pangan. Peroksidasi lipid merupakan reaksi kimia yang sering terjadi pada bahan pangan yang memproduksi asam, aroma tak sedap dan tosik selama proses pengolahan dan penyimpanan sehingga mempengaruhi mutu dan keamanan produk pangan (Heo et al., 2005).

2.7.3 Sumber Antioksidan dan Mekanisme Kerjanya

Berdasarkan mekanisme kerja dan sumbernya, antioksidan diklasifikasikan menjadi 3 golongan, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier. Antioksidan primer disebut juga sebagai antioksidan endogenus, yaitu antioksidan yang diproduksi secara alami dan kontinue oleh tubuh. Antioksidan primer merupakan jenis antioksidan enzimatis, yaitu mampu memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga radikal bebas ini menjadi lebih stabil.

Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah juga chain- breaking-antioxidant (Winarsi, 2007). Contoh antioksidan primer adalah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutation peroksidase (GSH) (Prakash, 2001; Tamat et al., 2007; Winarsi, 2007).

Antioksidan sekunder disebut juga sebagai antioksidan eksogenus atau antioksidan nonenzimatis, yaitu antioksidan yang tidak diproduksi secara alami oleh tubuh dan didapatkan dari asupan makanan maupun minuman.

Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antiksidan sekunder terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang terkandung didalamnya adalah vitamin C, vitamin E, β-karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, isokatekin,

asam lipoat, bilirubin dan albumin, likopen dan klorofil (Winarsi, 2007).

Antioksidan sintetik dibuat dari bahan-bahan kimia antara lain butylated hydroxyanisol (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tert-butylhydroquinone (TBHQ) dan propyl gallate (PG) (Heo et al., 2005). Antioksidan tersier meliputi system enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan bio-molekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA akibat radikal bebas dapat dicirikan oleh rusaknya single atau double strand pada gugus basa dan non basa (Winarsi, 2007).

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R•, ROO•) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A•) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida (Asda, 2009).

Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990). 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•) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).

Radikal lipida

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji (Gordon, 1990).

Radikal bebas DPPH akan ditangkap oleh senyawa antioksidan oleh radikal bebas untuk mendapatkan pasangan elektron dan mengubahnya menjadi difenil pikrilhidrazin (DPPH-H). Radikal ini mempunyai kereaktifan rendah, sehingga dapat mengurangi radikal bebas yang bersifat toksik (Cholisoh & Utami, 2009).

DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH

baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH (Cholisoh & Utami, 2009). Struktur molekul senyawa radikal bebas DPPH sebelum dan sesudah berikatan dengan elektron dari senyawa lain dapat dilihat pada gambar dibawah ini:

$$NO_2$$
 NO_2
 NO_2

Gambar 2.4 Struktur molekul senyawa radikal bebas DPPH sebelum dan sesudah berikatan

Adapun reaksi perendaman DPPH dengan senyawa antiradikal bebas dapat dilihat pada contoh sebagai berikut :

$$RH$$
 NO_2
 NO_2

[Sumber: Prakash et al. (2001) dalamAmelia, 2011]

Gambar 2.5 Reduksi DPPH dari senyawa radikal bebas

2.7.4 Metode Uji Antioksidan Dengan Perendaman Radikal 2,2-Difenil-1-Pikril Hidrazil (DPPH)

Packer (1995) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diukur dari kemampuannya menangkap radikal bebas. Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam pengukuran daya penangkapan radikal bebas adalah DPPH yang merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan. Jika disimpan dalam keadaan kering dan kondisi penyimpanan yang baik akan stabil selama bertahun-tahun (Amelia, 2011).

Metode DPPH adalah metode paling sering dilaporkan digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman obat. Metode perendaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambat radikal bebas. Prosedur ini melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya, yang sebanding terhadap konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan kelarutan reagen DPPH. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi efektif (*effective concentration*), EC₅₀ atau (*inhibitory concentration*), IC₅₀ (Amelia, 2011).

Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas DPPH dipilih karena metode ini sederhana, mudah, cepat, peka, dan hanya memerlukan sedikit sampel, akan tetapi jumlah pelarut pengenceran yang diperlukan dalam pengujian ini cukup banyak. Pelarut yang digunakan adalah etanol. Antioksidan pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah antioksidan sintetik yakni Vitamin C. Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Praptiwi, Dewi, & Harapini, 2006). Vitamin C termasuk golongan antioksidan sekunder yang mampu menangkal berbagai radikal bebas ekstraseluler. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Isnidar, Wahyuono, &Setyowati, 2011).

2.8 Antifungi

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

Mekanisme antijamur dapat dikelompokkan menjadi (Istya, 2009):

a. Gangguan pada membran sel

Gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel jamur, ini adalah komponen sterol yang sangat penting sangat mudah diserang oleh antibiotik turunan polien. Kompleks polienergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori dan melalui pori tersebut konstituen essensial sel jamur seperti ion K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino dan ester fosfat bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel jamur. Contoh: Nistatin, Amfoterisin B dan Kandisidin.

b. Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur

Mekanisme ini merupakan mekanisme yang disebabkan oleh senyawa turunan imidazol karena mampu menimbulkan ketidakteraturan membran sitoplasma jamur dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membrane dalam proses pengangkutan senyawa-senyawa essensial yang menyebabkan ketidakseimbangan metabolik sehingga menghambat pertumbuhan serta menimbulkan kematian sel jamur. Contoh: Ketokonazol, Klortimazol, Mikonazol, Bifonazol.

c. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein jamur

Mekanisme ini merupakan mekanisme yang disebabkan oleh senyawa turunan pirimidin. Efek antijamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel jamur menjadi suatu antimetabolit. Metabolik antagonis tersebut kemudian bergabung dengan asam ribonukleat dan kemudian menghambat sintesis asam nukleat dan protein jamur.

d. Penghambatan mitosis jamur

Efek antijamur ini terjadi karena adanya senyawa antibiotik Griseofulvin yang mampu mengikat protein mikrotubuli dalam sel, kemudian merusak struktur spindle mitotic dan menghentikan metafasa pembelahan sel jamur (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

2.8.1 Pertumbuhan Jamur

Pertumbuhan ialah pertambahan komponen organisme, ukuran yang diakibatkan oleh bertambahnya air atau karena deposito lipid bukan pertumbuhan yang sebenarnya. Pertumbuhan jasad renik ini melalui beberapa fase :

- a. Fase penyesuaian, ialah suatu masa dimana sel sel yang kehilangan metabolit dan enzim sebagai akibat keadaan yang tidak menguntungkan dalam pembiakan terdahulu.
- b. Fase eksponensial, selama fase ini, sel –sel berada dalam keadaan yang stabil. Bahan sel yang terbentuk dengan laju yang konstan, tetapi bahan yang baru itu bertambah secara eksponensial.
- c. Fase stasioner maksimum, pada fase ini terjadi penggantian sel. Ada kehilangan sel yang lambat karena kematian, yang diimbangi oleh pembentukan sel –sel yang baru.
- d. Fase kemunduran atau kematian, sesudah suatu masa dalam fase stasioner, yang bervariasi untuk tiap jenis kematian bertambah mencapai suatu tingkat yang tetap, seringkali

setelah sel mati mayoritas laju kematian berkurang secara drastik (Volk, 2003)

Menurut Tortora et al., (2001) dalam Utami (2005), pengujian bahan aktivitas antimikroba secara in vitro dapat dilakukan melalui dua cara yaitu:

1. Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimum) dan KBM (kadar bunuh minimum) dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan bahan antimikroba yang telah diencerkan secara serial, kemudian seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antimikroba pada tabung yang ditunjuk dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan jamur adalah merupakan konsentrasi hambat minimum). Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur ada dalam merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antimikroba terhadap jamur uji.

2. Metode Difusi Cakram (Uji Kirby-Bauer)

Prinsip dari metode difusi cakram adalah menempatkan kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba tertentu pada

medium lempeng padat yang telah dicampur dengan jamur yang akan diuji. Medium in kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selam 18-24 jam, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih di sekitar kertas cakram. Daerah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram akan menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Jamur yang sensitive terhadap bahan antimikroba akan ditandai dengan adanya daerah hambatan disekitar cakram, sedangkan jamur yang resisten terlihat tetap tumbuh pada tepi atas cakram.

1) Cara Kirby Bauer (disk diffusion)

Agen antibakteri dijenuhkan pada disk (kertas saring), kemudian disk tersebut diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Diukur zona hambatan pada sekitar disk.

2) Cara sumuran

Agen antibakteri diteteskan pada sumuran dengan diameter tertentu yang dibuat pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pengukuran zona hambatan pada skala sumuran.

3) Cara pour plate

Cara ini mirip dengan Kirby Bauer, hanya saja media agar yang digunakan dicampur homogen dengan suspensi bakteri uji.

2.8.2 Karakteristik Umum Jamur Candida albicans

Candida merupakan flora normal dan banyak tersebar di dalam tubuh terutama di membrane mukosa saluran pencernaan (24%) dan mukosa vagina (5-11%). Jamur ini bersidat oportunistik dan beberapa spesies Candida dapat menyebabkan infeksi seperti C. tropicalis, C.glablata dan terutama C. albicans sebagai spesies yang paling sering menyebabkan infeksi. Sebanyak 70% infeksi Candida disebabkan oleh spesies ini. Penyakit yang disebabkan oleh jamur ini dikenal sebagai Candidiasis dan sering terjadi pada daerah orofaring dan vagina (Arenas, 2001; Narins et al, 2003; Brooks et al, 2004).

2.8.3 Klasifikasi

Kingdom : Fungi

Phylum : Ascomycota

Subphylum : Saccharomycotina

Class : Saccaromycetes

Ordo : Saccaromycetales

Family : Saccaromycateceae

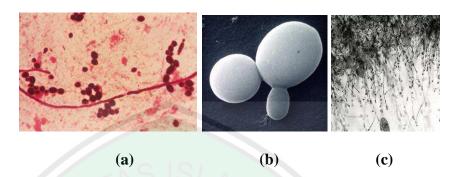
Genus : Candida

Spesies : Candida albicans (C.P. Robin) Berkhout 1923).

2.8.4 Morfologi Dan Identifikasi

Pada pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Gram-positif dapat ditemukan *Candida albicans* dalam bentuk *yeast*, berbentuk oval dengan diameter kurang lebih 5 µm dan bereproduksi dengan membentuk

budding. *C.albicans* sering juga ditemukan dalam bentuk *mycelium* dengan *pseudohyphae* dan kadang-kadang dapat ditemukan dalam bentuk sepate *mycelium* (Keyser *et al*, 2005).



Gambar 2.6 *Candida albicans* (a) pemeriksaan sputum dengan pewarnaan grampositif (b) bentuk *budding yeast* (c) *pseudohyphae* (sumber: keyser et al, 2005; Wikipedia, 2005)

C. albicans dapat tumbuh dengan baik pada media agar saboroud, tetapi dapat juga tumbuh pada media kultur biasa. Setelah proses inkubasi, pada pada media agar terlihat koloni C. albicans berbentuk bulat, berwarna putih dengan permukaan koloni yang terlihat agag kasar (Arenas, 2001; Keyser et al, 2005).

C. 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 8-12μ.

C. albicans dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5. Jamur ini dapat dalam perbenihan pada suhu 28°C-37°C. C. albicans tumbuh membutuhkan senyawa organic sebagai sumber karbon dan sumber energy untuk pertumbuhan dan proses metabolismenya. Unsur karbon ini dapat diperoleh dari karbohidrat. Jamur ini merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolism sel, baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Proses peragian (fermentasi) pada C. albicans dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolism sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Sedangkan dalam suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO₂. Proses akhir fermentasi anaerob menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan untuk proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi, karbohidrat dipakai oleh C. albicans sebagai sumber karbon maupun sumber energi untuk melakukan pertumbuhan sel (Hadioetomo, 1993).

2.8.5 Dinding sel *Candida albicans*

Permukaan sel *Candida albicans* adalah titik kontak pertama dengan hopses, dan berperan penting dalam adhesi, kolonisasi, dan imunomodulasi. Karena perbedaan strukturnya dengan sel manusia, serta peran pentingnya dalam pertumbuhan dan virulensi jamur, biogenesis dari dinding sel inilah yang menjadi target dari agen-agen antifungal.

Dinding sel jamur merupakan sebuah struktur elastis yang menyediakan perlindungan fisik dan dukungan osmotik, serta menentukan bentuk sel. Dinding sel ini merupakan sebuah struktur yang kompleks dan dinamis yang mengandung glukan, khitin, dan manoprotein.

Lapisan dalam dinding sel *Candida albicans* terdiri dari β-glukan dan khitin. B-glukan ini merupakan komponen utaman *Candida albicans*, meliputi sekitar 50-60% berat dinding selnya. Meskipun khitin hanya meliputi 1-10% berat dinding selnya, tetapi zat ini merupakan konstituen dinding sel *Candida albicans* yang penting. Khitin terdistribusi pada septa antara kompartemen sel independen, *budding scars*, da cincin antara sel induk dan tunasnya (blastospora). Kekuatan mekanis dinding sel *Candida albicans* ditentukan oleh lapisan dalam ini.

Lapisan terluar terdiri dari manoprotein yang terglikolisasi kuat, yang berasal dari permukaan sel. Lapisan ini terlibat dalam pengenalan antar sel (*cell-cell recognition events*), menentukan sifat permukaan sel dan berperan penting dalam interaksi dengan hopses. Maniprotein ini mewakili 30-40% dari total polisakarida dinding sel dan menentukan sifat permukaan sel. Manoprotein dinding sel secara kovalen berhubungan dengan senyawa β -1,3-glukan-khitin, baik secara tidak langsung melalui moietas (*moiety*) dari β -1,6-glukan maupun secara langsung. Sel-sel hifa *Candida albicans* mengandung khitin 2 kali lebih banyak daripada sel-sel ragi, sedangkan peningkatan β -1,6-glukan dan berkurangnya manoprotein pada sel-sel hifa disebabkan berubahnya temperature pertumbuhan.

1.8.6 Patogenitas Candida albicans

Candida albicans adalah jamur komersial yang secara normal hidup dimukosa manusia maupun hewan. Infensi oleh jamur ini disebut Candidiasis. Penykit ini terdapat diseluruh dunia, menyerang semua umur baik laki-laki maupun perempuan. Penyakit ini timbul apabila faktor predisposisi baik faktor yang bersifat endogen maupun eksogen (Narins et al, 2003; Kuswadji, 2005).

Candida albicans penyebab yang paling umum dari valvovaginitis. Hilangnya pH asam merupakan predisposisi timbulnya vulvovaginitis candida. Dalam keadaan normal pH yang asam dipertahankan oleh bakteri vagina. Diabetes, kehamilan, progesterone, atau pengobatan antibiotik merupakan predisposisi penyakit ini (Tortora, 2004). Biasanya sering terdapat pada penderita Diabetes mellitus karena kadar gula darah dan urin yang tinggi dan pada wanita hamil karena penimbunan glikogen dalam epitel vagina (Kuswadji, 1999). Vulvovaginitis menyerupai sariawan tetapi menimbulkan iritasi, gatal yang hebat dan pengeluaran sekret. Pada yang berat terdapat pula rasa panas, nyeri sesudah miksi dan dyspareunia. Pada pemeriksaan yang ringan tampak hyperemia 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 tersebut berasal dari massa yang terlepas dari dinding vulva atau vagina terdiri atas bahan nekrotik, sel-sel dan jamur (Kuswadji, 1999).

Pria yang terinfeksi jamur *Candida albicans*, penderita mendapat infeksi karena kontak seksual dengan wanitanya yang menderita vulvovaginitis. Lesi berupa erosi, pustule dengan dindingnya yang tipis, terdapat pada glans penis dan sulkus koronarius glandis (Kuswadji, 1999).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah deskriptif kualitatif. dengan uji aktivitas antioksidan dan uji aktivitas antifungi. Pengujian dilakukan pada ekstrak etanol kombinasi 1, kombinasi 2, dan kombinasi 3 dengan metode DPPH untuk mengetahui daya antioksidan dari kombinasi masing-masing. Dan untuk mengetahui daya antifungi dengan metode difusi cakram dengan mengamati ada atau tidaknya aktivitas antifungi pada kombinasi terhadap jamur *Candida albicans* kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi tabung untuk menentukan KHM dan KBM.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Oktober 2015 di Labolatorium biokimia, mikrobiologi dan genetika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan labolatorium mikrobiologi fakultas kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

a) Variable bebas yang digunakan adalah kombinasi dalam ramuan Tabel 2.4 Proporsi Kombinasi *Acorus calamus*, *Curcuma mangga*, dan *Allium sativum*.

dan Attium Sativum.			
Perlakuan	Proporsi (%)	Proporsi (%)	Proporsi (%)
Jamu kombinasi	rimpang jeringau	rimpang temu	umbi bawang
	(Acorus calamus	manga (Curcuma	putih (Alium
	L.)	mangga Val)	sativum Linn)
Kombinasi 1	28	36	36
Kombinasi 2	30	30	40
Kombinasi 3	25	40	35

Dosis ramuan 166 mg/kg BB

- 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 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 0,78%, dan 0,39%.

3.3.2 Variabel terikat

- Variable terikat pada aktivitas antimikroba 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. Variable terkontrol uji antifungi adalah suhu inkubsi dan media
- 2. Variable terkontrol uji antioksidan adalah suhu inkubasi dan panjang gelombang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada proses preparasi sampel diantaranya adalah alat perajang, penggiling, oven dan nampan besar. Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi senyawa aktif dengan meserasi adalah neraca analitik, kaca arloji, Erlenmeyer 500 mL, 250 mL, *alumunium foil*, Shaker, gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 100 mL, kertas saring, penyering *Buchner, rotary evaporator*, dan gelas vial.

Alat-alat yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah kuvet, Spektrofotometer UV-Vis *Varian Carry*, Inkubator, pipet, vortex. Alat yang digunakan untuk uji antifungi adalah autoklaf, kertas cakram, micrometer, jarum ose, cawan petri, testube, Erlenmeyer, pinset, milipore, oven, LAF, inkubator, beaker glass, tabung reaksi, vortex, timbangan analitik, spatula, pipet tetes, yellow tip, blue tip, penggaris dan alat tulis.

3.4.2 Bahan

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

Bahan kimia yang digunakan untuk uji antioksidan adalah etanol p.a, alumunium foil, aquades, 0.1 mM DPPH (2,2 – difenil-1-pikril hidrakazil), vitamin C (E. Merck p.a). Bahan yang digunakan untuk uji antifungi adalah SDA, SDB, alkohol 70%, etanol 70%, aquades steril, spirtus.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel Tumbuhan Acorus calamus (L), Allium sativum (Linn), dan Curcuma mangga (Val).

Bagian tanaman yang digunakan adalah, rimpang tumbuhan Acorus calamus L. (Ac)., umbi tumbuhan Allium sativum Linn. (As), dan rimpang tumbuhan Curcuma mangga Val. (Cm), dan digunakan simplisia langsung yang diperoleh dari kebun Balai Materia Medika Batu. Sebelumnya dilakukan determinasi sampel tanaman jeringau, bawang putih, dan temu mangga di Balai Materia Medika Batu untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar tumbuhan yang dimaksud, untuk menghindari kesalahan pengumpulan bahan yang akan berpengaruh pada hasil analisis dan mencegah tercampurnya bahan-bahan yang dikoleksi dengan tumbuhan lain. Berdasarkan hasil

determinasi tersebut diperoleh bahwa tanaman yang dikoleksi untuk kemudian dijadikan bahan penelitian merupakan bagian dari tanaman Ac, As dan Cm. (lihat lampiran 15)

Ekstrak yang berasal dari tanaman (Ac), (As) dan (Cm) masingmasing dipanen pada usia yang siap panen, kemudian penimbangan dilakukan berat basah. Hal ini dilakukan untuk mengetahui berat sampel sebelum dikeringkan. Kemudian dilakukan proses sortasi, pencucian, perajangan, pengeringan, penghalusan, dan penyaringan sehingga diperoleh serbuk kering dari masing masing tumbuhan. Sortasi dan pencucian bertujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya yang menempel pada tanaman dengan menggunakan air bersih. Rimpang (Ac), umbi (As), dan rimpang (Cm), selanjutnya dirajang menggunakan mesin untuk mempermudah proses pengeringan. Pengeringan dilakukan ditempat terbuka, pada tampah besar dan tidak terpapar dari sinar matahari secara langsung atau dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 40-45°C Pengeringan dilakukan dari jam 07.00 pagi sampai 10.00 siang. Pengeringan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga simplisia yang diperoleh tidak mudah rusak oleh adanya pertumbuhan jamur dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama.

Setelah dilakukan pengeringan, rajangan digiling dan diayak agar derajat kehalusan serbuk simplisia seragam. Penghalusan dan penyaringan ditujukan untuk memperoleh serbuk yang homogen dan untuk mempermudah proses penarikan zat aktif pada saat ekstraksi. Serbuk yang telah kering selanjutnya disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindungi dari cahaya untuk mencegah kerusakan dan mutu simplisia terjaga.

Setelah didapatkan serbuk simplisia, dilakukan maserasi untuk mendapatkan ekstrak etanol kombinasi. Setelah itu dilakukan uji antioksidan dengan metode DPPH dan uji antifungi dengan metode difusi cakram, KHM, dan KBM.

3.5.2 Penentuan rendemen

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat biomassa sel yang digunakan) dikali 100%. Masing-masing ekstrak dihitung rendemennya dengan persamaan:

Rendemen = <u>Berat ekstrak kasar yang diperoleh</u> x 100 %.....(3.1)

Berat sampel yang digunakan

3.5.3 Ekstraksi Kombinasi 1, 2, dan 3 Acorus calamus L., Curcumae manggae Val., dan Allium sativum Linn. dengan Metode Meserasi 1. Kombinasi 1

Sebanyak 28 gram serbuk rimpang jeringau (*Ac*), 36 gram serbuk rimpang temu mangga (*Cm*), dan 36 gram serbuk umbi bawang putih (*As*) dicampurkan dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 500 ml lalu, ditambahkan pelarut etanol p.a sebanyak 200 ml, kemudian direndam selama 24 jam. Kemudian di*shaker* 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 meserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat ethanol kombinasi digunakan untuk uji antifungi dan antioksidan.

2. Kombinasi 2

Sebanyak 7,5 gram serbuk rimpang jeringau (*Ac*), 7,5 gram serbuk rimpang temu mangga (*Cm*), dan 10 gram serbuk umbi bawang putih (*As*) dicampurkan dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 ml lalu, ditambahkan pelarut etanol p.a sebanyak 100 ml, kemudian direndam selama 24 jam. Kemudian di*shaker* 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 meserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat ethanol kombinasi digunakan untuk uji antifungi dan antioksidan.

3. Kombinasi 3

Sebanyak 6,25 gram serbuk rimpang jeringau (*Ac*), 10 gram serbuk rimpang temu mangga (*Cm*), dan 8,75 gram serbuk umbi bawang putih (*As*) dicampurkan dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 ml lalu, ditambahkan pelarut etanol p.a sebanyak 100 ml, kemudian direndam selama 24 jam. Kemudian di*shaker* 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 meserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat ethanol kombinasi digunakan untuk uji antifungi dan antioksidan.

Prinsip utama alat ini terletak pada penurunan tekanan dan pemutaran pada labu alas bulat yang secara terus menerus sehingga pelarut dapat menguap pada suhu di bawah titik didihnya (distilasi vakum). Volatilifitas relatif senyawa dapat meningkat jika tekanan diturunkan (Wonorahardjo, 2013). Penguapan pelarut etanol dengan *rotary evaporator vaccum* dilakukan pada suhu 50°C. Penguapan dihentikan sampai diperoleh ekstrak yang cukup pekat yang ditandai dengan berhentinya penetesan pelarut pada labu penampung.

Metode maserasi ini digunakan karena cara ekstraksi yang sederhana dan dapat menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan juga sederhana dan mudah diusahakan.

Menurut, Voight (1994) Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam. Dengan perendaman sampel, akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel karena perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi

senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.

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 Λ_{maks} larutan dan dicatat hasil pengukuran Λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Hanani, 2005).

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 – 120 menit dengan interval 5 menit. Sampel diukur menggunakan spektronik 20+ pada Λ_{maks} yang telah diketahui sebelumnya.

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 sebanyak 4,5 ml. tabung reaksi ditutup dengan alumunium foil, lalu diinkubasi selama 65 menit dengan suhu 37°C. Setelah itu larutan dimasukkan kedalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang 514,9 nm dengan waktu kestabilan 65-85 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 65-85 menit, kemudian dimasukkan kedalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514,9 nm. Data absorbansinnya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan persamaan Arindah (2010):

Aktivitas penangkapan radikal bebas (%)

(absorbansi kontrol- absorbansi sampel)

= ______ x 100%

absorbansi kontrol

Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidannya, selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai IC₅₀ nya dengan memperoleh persamaan regresi menggunakan program "Graphpad prisma5 softwere, Regression for analyzing dose-response data".

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

3.7 Uji Aktvitas 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% (Prescott, 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 media yang homogen dan dipanaskan selama 30 menit. Kemudian media 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

Untuk uji difusi cakram, sebanyak 0,1 mg ekstrak etanol kombinasi masing-masing perlakuan dilarutkan dalam 0,1 ml pelarut etanol. Untuk uji KHM dan KBM, disediakan 10 tabung diberi no 1-10. Untuk tabung 1

berisi kontrol bahan (KB), tabung 2-9 berisi larutan uji dibuat suatu seri pengenceran sebesar 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 0,78%, dan 0,39%, dan untuk tabung 10 berisi kontrol kuman (KK). Masing-masing tabung kecuali KB dan KK diberi 100 µl aquades steril. Tabung 1 berisi KB sebanyak 200 µl ekstrak, tabung 2 berisi 100 µl ekstrak dan dilakukan pengenceran pada tabung 2 dan diambil 100 µl dipindahkan ke tabung 3 s/d tabung ke 9 (lampiran 14.8, gambar 58)

3.7.5 Peremajaan Biakan Murni Jamur Candida albicans

Dilakukan inokulum kultur bakteri dari hasil regenerasi ke dalam media SDA ±1-2 ml dengan diambil 1 ose jamur *Candida albicans*. Lalu distreak pada cawan petri yang steril dan berisi media SDA yang sudah memadat Kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam (Warsinah dkk., 2011).

3.7.6 Pembuatan Suspensi Jamur Candida albicans

Inokulum *Candida albicans* diambil ± 1 ose dari hasil peremajaan, 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 10⁶cfu/mL dengan berpedoman pada kurva standar.

3.7.7 Uji Antifungi Komposisi 1, 2, Dan 3 Metode Difusi Cakram Secara *Pour Plate*.

Uji aktivitas antifungi dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (diameter 6 mm). Dimasukkan suspensi

jamur *Candida albicans* sebanyak 0,1 mL ke dalam cawan petri steril, kemudian dimasukkan media SDA yang masih cair sebanyak ±5 ml, dan media dibiarkan memadat. Di atas medium SDA diletakkan kertas cakram steril yang telah direndam dengan ekstrak etanol komposisi 1, 2 dan 3 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.

3.7.8 Uji Konsentrasi Hambat Minimun dan Konsentrasi Bunuh Minimum

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), dilakukan dengan melakukan *streak plate* dari hasil uji daya antibakteri secara dilusi padat. Hasil uji yang digunakan adalah semua media yang memberikan kejernihan media secara visual.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil larutan ekstrak kombinasi yang dapat menghambat jamur uji *Candida albicans* masih dapat tumbuh pada hasil *streak plate*, setelah diinkubasi selama 18-24 jam. Sedangkan, KBM adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh bakteri, ditandai dengan *C. albicans* sudah tidak dapat

tumbuh pada hasil *streak plate* yang menandakan bakteri uji mati karena larutan uji dengan konsentrasi tersebut setelah sebelumnya diinkubasi selama 18-24 jam , atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal. Kontrol positif yaitu tabung dengan berisi konsentrasi 0% ekstrak atau tanpa larutan ekstrak kombinasi. Kontrol negatif yaitu berisi konsentrasi 100% ekstrak kombinasi saja. (McKane & Kandel, 1996; Koneman Allen & Schreckenbergerr, 1997; Dwijayanti, 2011).

Pertama kali yang dilakukan adalah menyiapkan tabung sebanyak 10 buah yang diberi nomor 1-10. Tabung no 1 merupakan kontrol bahan (ekstrak) murni sebanyak 200 μl, tabung 2 berisi 100 μl bakteri + 100 μl ekstrak menjadi konsentrasi 100%, tabung 3-10 di isi akuades steril sebanyak 100 μl kemudian dilakukan pengenceran dari tabung 3-10, dengan cara pada tabung 3 sebanyak 100 μl akuades ditambah 100 μl ekstrak kemudian divorteks dan diambil sebanyak 100 μl dipindah ke tabung 4 begitu seterusnya sampai dengan tabung 9 secara berurutan tabung 3 sampai 9 menjadi konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%, 0,78%, dan 0,39%. Pada tabung 9 setelah divorteks diambil 100 μl dan dibuang. Untuk tabung 10 merupakan kontrol kuman yakni suspensi *Candida albicans*. Kemudian setelah itu, tabung 2 sampai dengan tabung 10 diisi suspensi *Candida albicans* 10⁶ dalam SDB masing-masing sebanyak 100 μl. kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C, setelah 1x24 jam di lihat kekeruhannya untuk penentuan KHM. Setelah itu

ditanam pada media padat SDA semua tabung 1-10 untuk penentuan KBM.

3.7.9 Penghitungan Koloni Jamur

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

3.8 Analisa data

3.8.1 Analisis Data Uji Antioksidan

Analisis data uji antioksdian dilakukan dengan menghitung persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi masingmasing ekstrak dan pembanding yaitu asam askorbat (vitamin C), kemudian dilakukan perhitungan IC₅₀ dengan menggunakan persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak (x) dengan persen (%) aktivitas antioksidan (y). Dibandingkan nilai IC₅₀ pada masingmasing sampel. Sampel yang mempunyai nilai IC₅₀ terendah menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang tinggi. Selanjutnya, membandingkan nilai IC₅₀ pada masing-masing sampel dengan pembanding untuk mengetahui aktivitas antioksidan alami dengan antioksidan sintetik.

3.8.2 Analisis Data Uji Antifungi

Data hasil penelitian yang dianalisis berupa kepekaan 100% ekstrak kombinasi 1, 2, dan 3 yang di dapat melalui luas diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri diuji *Candida albicans*. Data uji antibakteri dengan dilusi padat didapatkan dengan melihat kekeruhan media secara visual dan dianalisis secara dengan deskriptif. Nilai KHM dan KBM didapat dari hasil penegasan dengan metode *streak plate*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Perhitungan Rendemen

Hasil rendemen ekstrak etanol kombinasi (*Ac*), (*As*) dan (*Cm*) dengan metode meserasi menggunakan pelarut etanol p.a dengan perendaman selama 24 jam. Rendemen ekstrak pekat etanol ditunjukkan pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Tabel Hasil Perhitungan Rendemen

Sampel	Rendemen (%)	Ciri fisik ekstrak
	(b/b)	2
Kombinasi 1 (K1)	11,3601	Coklat tua pekat
Kombinasi 2 (K2)	11,4728	Coklat tua pekat
Kombinasi 3 (K3)	11,7464	Coklat tua pekat menggumpal

Rendemen merupakan persentase bagian bahan baku yang dapat digunakan atau dimanfaatkan dengan total bahan baku. Menurut Kusumawati (2008) semakin tinggi nilai rendemen menandakan bahwa bahan baku memiliki peluang untuk dimanfaatkan lebih besar.

Rendemen merupakan persentase sebelum dan setelah perlakuan. Rendemen setelah perlakuan dihasilkan masing-masing nilai rendemen kombinasi 1 11,3601% (b/b), kombinasi 2 11,4728% (b/b), sedangkan kombinasi 3 11,7464% (b/b). Rendemen yang dihasilkan cukup banyak, namun, untuk menghasilkan ekstrak etanol lebih banyak lagi memerlukan banyak sampel.

Perbedaan rendemen terjadi kemungkinan dikarenakan komponen yang digunakan menggunakan perbandingan konsentrasi yang berbeda pada setiap komposisinya. Selain itu pelarut juga mempengaruhi rendemen yang dihasilkan. Pelarut yang digunakan adalah etanol p.a, etanol mampu lebih banyak mengekstrak sari yang ada pada sampel khususnya pada senyawa yang bersifat polar, karena etanol merupakan pelarut yang sifatnya polar. Hanya saja yang membedakan adalah besarnya komposisi yang digunakan pada setiap sampelnya membuat rendemen yang dihasilkan juga berbeda.

Nur dan Astawan (2011) mengemukakan bahwa tingginya rendemen ekstrak pada pelarut polar dikarenakan makromolekul gula sederhana seperti monosakarida dan oligosakarida ikut terlarut dalam pelarut polar, namun tidak terlarut dalam pelarut nonpolar.

Nilai rendemen ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah lama ekstraksi. Kekuatan penetrasi pada pelarut etanol semakin lama semakin berkurang. Ini dikarenakan jumlah komponen yang terambil dalam bahan sedikit. Alfiana (2013), menegaskan bahwa lamanya waktu proses ekstraksi sangat berpengaruh terhadap ekstrak yang dihasilkan.

Ini terlihat dari hasil nyang didapatkan. Kelarutan komponen dalam bahan berjalan dengan perlahan sebanding dengan kenaikan waktu, akan tetapi setelah mencapai waktu optimal jumlah komponen yang terambil dari bahan akan mengalami penurunan. Hal ini terjadi karena komponen-komponen yang terdapat dalam bahan dan pelarut yang digunakan

mempunyai batas kemampuan yang melarutkan bahan yang ada, sehingga walaupun waktu diperpanjang, solute yang ada didalam bahan sudah tidak ada yang menyebabkan nilai rendemen yang dihasilkan hanya seperti pada tabel diatas.

4.2 Potensi Ekstrak Etanol Kombinasi Sebagai Antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Tujuan dari penentuan panjang gelombang maksimum untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki serapan tertinggi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum larutan DPPH sebesar 514,9 nm dengan absorbansi 0,228 (lampiran 8).

Berdasarkan hasil pengukuran waktu kestabilan didapatkan rentang waktu kestabilan ekstrak etanol kombinasi selama 65-85 menit. Pengukuran waktu kestabilan dilakukan untuk mengetahui waktu dimana sampel dan DPPH sudah bereaksi secara stabil yakni sempurnanya reaksi antara sampel dan DPPH yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan absorbansi (Lu Y., 2000).

Setiap senyawa memiliki waktu kestabilan yang berbeda untuk dapat bereaksi secara sempurna (Brand-William, et al., 1995), sehingga penentuan waktu kestabilan masing-masing sampel sangat penting untuk dilakukan. Hasil penentuan waktu kestabilan dari ekstrak kombinasi dan kontrol positif (vitamin C) disajikan pada (lampiran 6 & 7).

4.2.1 Hasil Persen Aktifitas Antioksidan

Persen aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Semakin tinggi persen aktivitas antioksidan menunjukkan banyaknya atom hidrogen yang diberikan senyawa aktif kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Rahayu, *et al.*, 2010). reaksi perendaman DPPH ditunjukkan dengan perubahan warna pada reaksi dibawah ini :

[Sumber: Prakash et al. (2001) dalam Amelia, 2011]

Gambar 2.5 Reduksi DPPH dari senyawa radikal bebas

Banyaknya atom hidrogen yang didonorkan oleh molekul antioksidan dapat diketahui secara kualitatif dengan terjadinya perubahan warna radikal DPPH dari ungu menjadi kuning. % inhibisi adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas, yang berhubungan dengan konsentrasi suatu bahan. Nilai IC₅₀ sendiri merupakan salah satu parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari pengujian DPPH. Nilai IC₅₀ ini dapat

didefinisikan sebagai konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan berkurangnya 50% aktivitas DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Molyneux, 2004).

Perubahan warna yang terjadi setelah ditambahkan DPPH, kemudian diinkubasi terjadi perubahan warna pada sampel dari warna ungu menjadi warna kuning. Hal ini terjadi karena senyawa yang terkandung dalam sampel yang merupakan (pendonor elektron) mampu mereaksikan elektron kepada DPPH yang merupakan radikal bebas yang tidak memiliki pasangan elektron sehinggga elektron menjadi stabil.

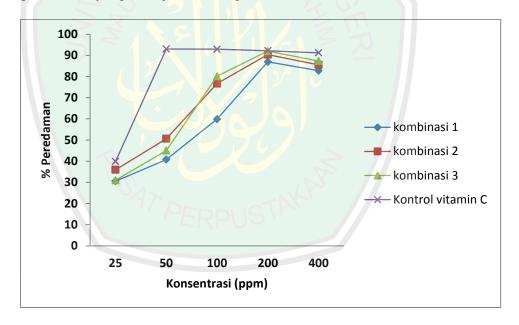
Sunarni (2005), Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 515 nm dengan warna violet gelap. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil.

Menurut Widyaningsih (2010) semakin besar konsentrasi bahan uji, warna kuning yang dihasilkan akan semakin kuat. Pembanding yang digunakan sebagai kontrrol positif adalah vitamin C karena berfungsi sebagai antioksidan sintetik yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai.

Jika suatu senyawa memiliki aktivitas sebagai antioksidan, maka akan terjadi penurunan nilai absorbansi DPPH pada panjang gelombang 514,9 nm. Penurunan absorbansi DPPH ditunjukan dengan terjadinya

degradasi warna DPPH dari warna ungu menjadi warna kuning. Proses degradasi warna DPPH berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak yang ditambahkan. Dari nilai absorbansi DPPH yang diperoleh dapat ditentukan nilai persentasi penghambatan radikal DPPH (% inhibisi). Dari nilai % inhibisi dapat ditentukan nilai IC₅₀ (*inhibitory concentration*). Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Zuhra, Tarigan & sihotang, 2008)

Untuk lebih meyakinkan reaksi peredaman DPPH kemudian, diukur secara kuantitatif dengan alat UV VIS untuk mengetahui % peredaman yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀.



Gambar 4.1 Grafik aktivitas antioksidan ekstrak etanol kombinasi *Acorus calamus L., Allium sativum Linn., dan Curcuma mangga Val.* dan vitamin C dengan % peredaman.

Grafik 4.1 menunjukkan bahwa persen peredaman tertinggi dihasilkan oleh kombinasi 2, yaitu dengan konsentrasi 200 ppm. Kemudian, persen peredaman tertinggi kedua dihasilkan oleh kombinasi 3,

yaitu dengan konsentrasi 200 ppm. Sedangkan, persen peredaman terendah dihasilkan oleh kombinasi 1, yaitu dengan konsentrasi 200 ppm. Lain halnya dengan vitamin C, persen peredaman ditunjukkan pada konsentrasi 50 ppm. Secara umum, setiap konsentrasi meningkat, persen peredaman juga ikut meningkat.

Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kombinasi yang ditambahkan pada masing-masing kombinasinya, maka semakin tinggi pula persen peredaman yang dihasilkan. Lain halnya dengan vitamin C, karena merupakan antioksidan sintetik sehingga dalam konsentrasi kecil pun sudah mampu untuk mengangkal radikal bebas.

Ini sesuai dengan pendapat Hanani *et al*, (2005), yang menyatakan bahwa persen penghambatan (persen peredaman) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Namun, pada konsentrasi 400 ppm masing-masing ekstrak kombinasi mengalami penurunan % peredaman sedangkan % peredaman tertinggi rata-rata didapatkan pada konsentrasi 200 ppm. Hal ini berarti penangkapan radikal bebas masih efektif sampai konsentrasi 200 ppm, dan belum menjadi prooksidan (suatu zat yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif). Kemampuan antioksidan mulai melemah pada konsentrasi yang besar. Hal ini dikarenakan besar konsentrasi yang ditambahkan akan berpengaruh pada laju oksidasi. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju

oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji (Gordon, 1990)

Namun, normalnya terjadi kenaikan % inhibisi pada setiap konsentrasi yang semakin tinggi. Pernyataan ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hanani et al (2005), yang menyatakan bahwa persentase penghambatan (% inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring denggan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Besarnya konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat merubah aktivitas apabila melebihi batas sehingga, dapat merubah fungsi aktivitasnya yaitu dari aktivitas sebagai antioksidan berubah menjadi aktivitas sebagai prooksidan. Hal ini serasi dengan firman Allah dalam surat al-A'raf ayat 31:

Artinya :... makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan. (Qs. Al A'raf:31).

Makanan dalam hal ini kombinasi jeringau, temu mangga, dan bawang putih yang seimbang itu harus sesuai dengan kebutuhan konsumen tidak terlalu berlebihan (tabdzir) atau berkekurangan, tidak melampaui batas yang wajar (Dewi, 2007). Aman artinya tidak menyebabkan penyakit, dengan kata lain aman secara duniawi dan ukhrawi. Ayat ini memerintahkan manusia untuk mengkonsumsi makanan dalam konteks ketakwaan pada saat menjalankan perintah konsumsi makanan. Supaya

manusia berupaya untuk menghindarkan makanan yang mengakibatkan siksa dan terganggunya rasa aman. Sesungguhnya Allah ≥ mengancam orang orang yang berlebih-lebihan dengan kebinasaan dan siksa, sebagaimana firman −Nya:

Artinya: Kemudian kami tepati janji (yang Telah kami janjikan) kepada mereka. Maka kami selamatkan mereka dan orang-orang yang kami kehendaki dan kami binasakan orang-orang yang melampaui batas (QS. Al-Anbiya': 9).

Kebinasaan yang dimaksud dalam surat al-Anbiya' ayat 9 diartikan bahwa pelampauan batas dalam memakan makanan yang halal itu dapat berdampak negatif terhadap kesehatan atau jiwa seseorang bahkan dapat mengakibatkan kematian. Senyawa antioksidan dalam kombinasi tumbuhan (Ac), (As) dan (Cm) dapat berfungsi sebagai antioksidan apabila masih dalam batas konsentrasi tertentu, apabila melebihi batas konsentrasi tersebut maka aktivitas sebagai antioksidan dapat berubah menjadi prooksidan sehingga dapat mendatangkan efek negatif, seperti munculnya penyakit kanker, terutama untuk penggunaan di atas ambang batas. Oleh karena itu Allah melarang hambanya untuk berlebih-lebihan.

Al-Jauziyah (2007) menyebutkan bahwa kesembuhan terhadap penyakit dikaitkan oleh Rasulullah dengan proses "kesesuaian" obat dengan penyakit yang diobati. Karena setiap ciptaan Allah itu pasti ada antinya, artinya setiap penyakit pasti ada obat yang menjadi antinya agar penyakit itu sembuh oleh karena itu kesembuhan terhadap penyakit dikaitkan oleh Rasulullah dengan proses kesesuaian obat dengan

penyakit yang diobati. Jadi yang diakui bukan hanya eksistensi obat untuk setiap penyakit. Karena kalau obat itu diberikan dengan cara yang salah atau diberikan dengan dosis yang berlebihan justru dapat menyebabkan munculnya penyakit lain. Kalau dosisnya kurang, juga tidak dapat mengobati, waktu yang tidak tepat juga dapat menyebabkan obat tersebut tidak berfungsi. Apabila tubuh juga tidak mampu menerima obat tersebut atau daya tahan tubuhnya kurang mendukung dalam mengkonsumsi obat itu, atau ada pantangan yang dikonsumsi sehingga menghilangkan fungsi obat tersebut, kesembuhan juga tidak dapat dicapai karena tidak ada "kesesuaian". Kalau benar-benar ada kesesuaian, penyakit dimungkinkan dapat sembuh.

4.2.2 Hasil Nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀)

Tabel 4.2. Hasil IC₅₀ kombinasi 1, 2, 3 dan vitamin C

No.	Sampel Ekstrak	IC ₅₀	Kriteria
1	Kombinasi 1	61.75	Aktif
2	Kombinasi 2	42.76	Kuat
3	Kombinasi 3	47.94	Kuat
4	Vitamin C	27.59	Kuat

Berdasarkan Tabel 4.2 diatas ekstrak etanol kombinasi yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi adalah kombinasi 2 yakni sebesar 42,76 yang memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat. Setelah itu, untuk kombinasi 3 sebesar 47,94 yang memiliki aktivitas antioksidan yang juga kuat, dan yang terakhir kombinasi 1 yakni 61,75 ini

menunjukkan bahwa kombinasi 1 memiliki aktivitas antioksidan yang aktif.

Hal ini menunjukkan semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai antioksidan. Menurut Ariyanto Armala (2009) tingkat kekuatan antioksidan yang termasuk intensitas sangat kuat yaitu yang memiliki nilai $IC_{50} < 50$ ppm. Dengan demikian ekstrak etanol kombinasi 2 dan 3 menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat.

Nilai IC_{50} ini sesuai dengan kriteria dari Menurut Jun dkk, (2003) tingkat kekuatan antioksidan adalah kuat (IC_{50} <50 ppm), Aktif (IC_{50} 50-100 ppm), Sedang (IC_{50} 101-250 ppm), Lemah (IC_{50} 250-500 ppm), dan tidak aktif (IC_{50} >500 ppm).

4.3 Potensi Ekstrak Kombinasi Sebagai Antifungi Candida Albicans.

4.3.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat

Aktivitas antifungi pada ekstrak etanol kombinasi 1, kombinasi 2, dan kombinasi 3 melalui metode difusi cakram. Pengujian ini dilakukan terhadap fungi *Candida albicans*. Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, diperoleh diameter zona hambat (dalam mm) melalui pengukuran dengan menggunakan jangka sorong. Pengamatan setelah jamur *C. albicans* diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu 37°C, adapun rata-rata diameter zona hambat dari uji aktivitas antijamur ekstrak etanol kombinasi 1, kombinasi 2, dan kombinasi 3 dari kombinasi tumbuhan (*Ac*), (*As*) dan (*Cm*) terhadap jamur *Candida albicans* dapat terlihat pada tabel 4.4 berikut ini:

Tabel 4.3 Tabel hasil zona hambat kombinasi 1,2 dan 3.

	Besar zona hambat	Kriteria zona hambat
Sampel	(mm)±SD	
kombinasi 1	5.44±1.78	Sedang
kombinasi 2	4.08±0.86	Sedang
kombinasi 3	3.05±0.23	Sedang
Nystatin	17.68±0.45	Kuat
Etanol 70%	0.76±0.22	Lemah

Berdasarkan tabel 4.4 diatas dapat diambil kesimpulan bahwasanya kombinasi tumbuhan (*Ac*), (*As*) dan (*Cm*) mampu penghambat pertumbuhan jamur uji *Candida albicans* yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada masing-masing komposisi. Hal ini dibuktikan dengan besarnya diameter zona hambat pada kombinasi 1 yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 5,44 mm kategori sedang. Kemudian, kombinasi 2 yang menghasilkan zona hambat sebesar 4,08 mm kategori sedang dan kombinasi 3 yang menghasilkan zona hambat sebesar 3,05 mm kategori sedang.

Ini membuktikan bahwa pada konsentrasi 100% menunjukkan bahwa pada komposisi 1, 2, dan 3 mempunyai kemampuan menghambat *Candida albicans* dengan menghasilkan diameter zona hambat yang tergolong sedang. Untuk kontrol positif (Nystatin 0,1 gr) menghasilkan zona hambat sebesar 17,86 mm tergolong dalam kategori kuat. Untuk etanol 70% yang merupakan kontrol negatif memiliki aktifitas antifungi

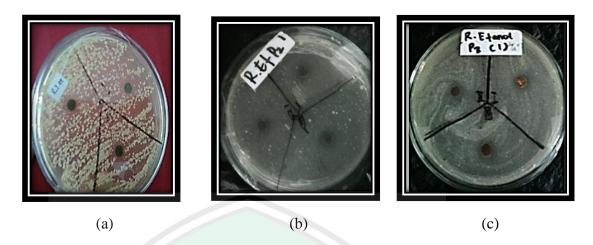
sebesar 0,76 mm yang berarti memiliki kategori lemah. Nystatin dipilih karena merupakan antibiotik yang digunakan sebagai anti jamur, diisolasi dari *Streptomyces nourse* pada tahun 1951 dan merupakan golongan poliene yang paling baik untuk merusak membrane sel jamur.

Lubis, Ramona D. (2008) menyatakan bahwa mekanisme kerja golongan poliene yaitu dengan ergosterol secara irreversible. Ergosterol merupakan komponen yang sangat penting dari membrane sel jamur.

Etanol 70% digunakan sebagai kontrol bertujuan untuk mengetahui apakah etanol 70% terdapat aktifitas sebagai antifungi. Berdasarkan hasil penelitian ini, kontrol etanol yang digunakan memiliki aktivitas antifungi, sehingga untuk menentukan zona hambat pada kombinasi, hasilnya nantinya dikurangi dari daya hambat etanol (daya hambat kombinasi dikurangi daya hambat etanol 70%).

Etanol 70% digunakan sebagai pelarut karena tidak beracun dan tidak berbahaya jika diaplikasikan pada produk untuk dikonsumsi. Sesuai dengan pernyataan. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membrane sel dan memperbaiki stabilitas bahan terlarut. Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Voight, 1994).

Berikut kategori respon hambatan pertumbuhan berdasarkan diameter zona hambat. Pan, Chen, Wu, Tang, dan Zhao (2009) dalam (Mahmud, *et all*, 2013) Kuat (>6 mm), Sedang (3-6 mm) dan Lemah (0-3 mm).



(a) Gambar 5. Hasil Uji Cakram ekstrak kombinasi terhadap *Candida albicans* Kombinasi 1; (b) Kombinasi 2; (c) Kombinasi 3

Berdasarkan gambar diatas dapat dilihat adanya zona bening yang terbentuk dari hasil uji difusi cakram. Besar diameter zona hambat bergantung pada besarnya jumlah senyawa ekstrak yang dapat tersari. Sehingga ekstrak kombinasi bisa saja mengalami peningkatan maupun penurunan zona hambat. Menurut sinambela (1985) dalam Mahmud (2013) penurunan dan peningkatan besar zona hambat disebabkan karena komponen zat-zat yang terkandung dalam tanaman dapat saling memperlemah, memperkuat, memperbaiki atau merubah sama sekali.

4.3.2 Hasil Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM)

Berdasarkan hasil penelitian, kadar hambat minium dapat dilihat pada tabel 4.6 sebagai berikut :

Tabel 4.4 Hasil Uji KHM Kombinasi 1, 2, dan 3 terhadap jamur *Candida albicans*.

Konsent	onsent Kombinasi 1		Kombinasi 2		Kombinasi 3				
rasi	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Kontrol	-	-	-	-		-	-	-	-
mikroba		TA	S	SL	911				
0,39%	2	AVIO	MA	\L _{IK}	18/	1-	-	-	-
0,78%	+	+5	+	+	+	+0	+	+	+
1,56%	+	+	+	+	+	4	77	+	+
3,13%	+	74	+	+	2+	+	+	+	+
6,25%	+	++	++	++	C ⁺	+	++	+	++
12,5%	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
25%	++5	+++	++	++	+++	++	+++	+++	+++
50%	++	+++	++	+++	+++	++	+++	++++	+++
		+	+		+	+	+		+
Kontrol	++	+++	++	+++	+++	++	+++	++++	+++
negatif	++	+	++	+	+	++	+		+

Keterangan: Sangat keruh : ++++, Keruh : +++, Agak keruh: ++, Jernih: -

Metode dilusi cair dilakukan untuk mengetahui daya antifungi kombinasi 1, 2, dan 3 terhadap fungi *Candida albicans* dan menentukan konsentrasi terendah dari kombinasi yang dapat menghambat (KHM) pertumbuhan fungi. Penentuan KHM dilakukan dengan mengamati secara visual kekeruhan media atau pertumbuhan yang terjadi pada jamur *Candida albicans* setelah diberi larutan uji dan suspensi lalu diinkubasi 37°C selama 24 jam. Senyawa uji dapat dikatakan memiliki daya antifungi jika media uji memiliki kejernihan lebih besar dibandingkan kontrol kuman. Berdasarkan tabel diatas dan gambar hasil penelitian (lampiran 14.8, gambar 58) dapat dilihat bahwa konsentrasi 0,39% memiliki kejernihan dibandingkan dengan kontrol kuman, sehingga KHM bisa ditentukan pada konsentrasi 0,38%.

4.3.3 Hasil Penentuan Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Tabel 4.5 Tabel Hasil uji KBM Kombinasi 1, 2, dan 3 terhadap *Candida albicans*.

Konsentrasi	Kombinasi 1	Kombinasi 2	Kombinasi 3
Kontrol	123x10 ⁹	123x10 ⁹	123x10 ⁹
mikroba	0000	7' > /	
0,39%	78x10 ⁶	61,2x10 ⁶	$80,67 \times 10^6$
0,78%	<i>F</i> [0]PU5	0	0
1,56%	0	0	0
3,13%	0	0	0
6,25%	0	0	0
12,5%	0	0	0
25%	0	0	0
50%	0	0	0
Kontrol negatif	0	0	0

Untuk memastikan nilai KHM dan KBM, maka dilakukan penegasan dengan metode *streak plate* pada semua konsentrasi yang dihasilkan dari larutan uji. Hasil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,39 % masih ada pertumbuhan jamur, sedangkan pada konsentrasi 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56 dan 0,78% sudah tidak terlihat lagi adanya pertumbuhan jamur (Lampiran 14.6). Maka, disimpulkan bahwa KHM dari ekstrak etanol kombinasi adalah 0,39% dan KBM dari ekstrak etanol kombinasi adalah 0,78%.

Nilai KHM dan KBM ini dapat dipergunakan sebagai pertimbangan untuk penentuan konsentrasi komposisi ramuan dan informasi kombinasi yang paling baik untuk mengatasi keputihan yang dapat menyebabkan infertilitas akibat jamur *Candida albicans*.

Konsentrasi larutan yang digunakan dalam uji ini berdasarkan uji pendahuluan sebelumnya. Sebagai perlakuan digunakan 8 konsentrasi larutan uji, yaitu 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56, 0,78, dan 0,39%. kontrol yang digunakan pada dilusi padat adalah kontrol kuman (*Candida albicans*) dan kontrol bahan.

Kontrol bahan digunakan dengan menuang media SDA steril dan ekstrak ke dalam cawan steril. Hasil pengamatan menunjukkan tidak ada pertumbuhan fungi pada media, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak yang digunakan steril atau bebas dari kontaminasi (lampiran 14.6,

Gambar 60). Kontrol pertumbuhan digunakan dengan menuang suspensi fungi uji dan SDA steril kedalam cawan steril. Hasil pengamatan menunjukkan pertumbuhan *Candida albicans* dapat tumbuh dengan baik pada media SDA (Lampiran 14.6, Gambar 60).

Berdasarkan hasil yang telah dipaparkan dapat diketahui bahwa hasil dari uji antioksidan dan uji antifungi saling terkait dan saling mempengaruhi karena hasil dari antioksidan juga berpengaruh terhadap hasil antifungi terhadap *Candida albicans*. Semakin tinggi nilai IC₅₀ semakin berpotensi juga dalam menghambat jamur *Candida albicans* ditunjukkan dengan hasil nilai KHM dan KBM dan kombinasi 2 adalah kombinasi yang paling baik.

Penelitian sebelumnya, mengenai uji fitokimia kandungan senyawa yang dimiliki oleh ekstrak etanol kombinasi yakni alkaloid, flavonoid dan triterpenoid (Azzahra, 2015). Senyawa-senyawa ini mampu untuk meredam aktifitas radikal bebas. Heindrich, Joanne, Simon, dan Heinrich (2008), menyatakan bahwa senyawa yang memiliki sifat sebagai antioksidan kuat yakni flavonoid, tannin, fenol, alkaloid, dan saponin.

Anisah (2014), berdasarkan uji fitokimia ekstrak rimpang jeringau terkandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri. Lingga dan Rustama (2005), berdasarkan uji fitokimia ekstrak bawang putih terkandung senyawa metabolit sekunder seperti tannin, alkaloid, dan saponin. Sedangkan kandungan metabolit sekunder ekstrak temu mangga seperti kurkumin, flavonoid, polifenol, dan

minyak atsiri. Sedangkan Temu mangga mengandung senyawa antioksidan, diantaranya kalkon, flavon flavanon yang cenderung larut dalam air (Setyaningrum *et al*, 2013)

Senyawa aktif yang mendukung ekstrak etanol kombinasi memiliki potensi sebagai antioksidan dan antifungi adalah kandungan senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid mempunyai kemampuan antioksidan untuk menangkal radikal bebas dan oksigen aktif. Salah satu senyawa flavonoid yang telah diketahui efektif sebagai antioksidan adalah kuersetin (Buhler dan Miranda, 2000). Aktivitas antioksidan kuersetin yang sangat kuat disebabkan kemampuannya menangkap radikal bebas oleh adanya beberapa gugus hidroksi fenolik yang dimilikinya dengan membentuk radikal baru. Radikal kuersetin yang terbentuk tersebut mampu distabilisasi lebih lanjut dengan adanya gugus ortho dihidroksi fenolik pada cincin B nya. Selain oleh gugus fenolik pada cincin B, stabilisasi radikal bebas juga dapat dilakukan oleh gugus fenolik pada cincin A.

Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dan juga memperkuat sistem pertahanan mukosa melalui stimulasi sekresi mukus gastrik (Anigu *et al.* 2005). Flavonoid dapat berperan sebagai penangkap radikal spesies oksigen reaktif (seperti anion superoksida) dan radikal bebas (Anigu *et al.* 2005).

Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan juga membentuk kompleks dengan logam. Kedua mekanisme tersebut membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim (Pietta, 2000).

Senyawa yang terkandung dalam ekstrak memiliki potensi sebagai antijamur yang baik. Flavonoid yang memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* adalah flavonoid golongan flavanon dan flavan yang dapat tersari oleh pelarut etanol yang digunakan (Cushinie TP dan Lamb AJ, 2005).

Senyawa flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membrane dan dinding sel serta dapat menganggu metabolisme sel dengan cara menghambat transport nutrisi (Nurhafani F, 2012 dalam Kurniawan, Dwi, 2015).

Selain senyawa flavonoid, senyawa alkaloid juga berpotensi sebagai antioksidan dan antifungi. Senyawa alkaloid, terutama indol, memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama. Beberapa senyawa alkaloid lain yang bersifat antioksidan adalah quinolone, kafein yang dapat bertindak sebagai peredam radikal hidroksil dan melatonin yang berperan penting menjaga sel dari pengaruh radiasi dan toksisitas obat-obatan (Yuhernita & Juniarti, 2011) dalam (Harrizul, *et al*, 2013).

Golongan alkaloid yang memiliki aktivitas antimikroba adalah cryptolepine juga kemungkinan terkandung dalam ekstrak kombinasi

tersebut (Karou D, *at all*, 2005). Senyawa alkaloid dapat menghambat sintesis asam nukleat dan mempengaruhi ergosterol pada *Candida albicans* (Freiesleben, S dan Jager, A, 2014 dalam Kurniawan, Dwi, 2015). Ergosterol merupakan komponen membrane plasma dan berperan dalam pembentukan kitin yang merupakan komponen polisakarida dinding sel dan mempunyai peran penting dalam pertunasan *Candida albicans*. Senyawa triterpenoid memiliki aktivitas antijamur dengan cara mempengaruhi permeabilitas membrane sel yang akhirnya dapat menyebabkan membrane sel lisis (Liu J dan Nes WD, 2009 dalam Kurniawan, Dwi, 2015).

Senyawa triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak etanol kombinasi ini juga mampu digunakan sebagai antioksidan dan antifungi. Triterpenoid merupakan golongan terpenoid yang berpotensi sebagai antimikroba. Selain itu senyawa ini banyak digunakan untuk menyembuhkan penyakit gangguan kulit. Triterpenoid memiliki sifat antijamur, insektisida, antibakteri, dan antivirus (Robinson, 1995).

Golongan triterpenoid yang berpengaruh terhadap antimikroba adalah triterpena pentasiklik α -amirin dan β -amirin. Senyawa ini dimungkinkan sebagai pelindung seranga mikroba (Harborne, 1987).

Terpenoid, termasuk triterpenoid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur. Nata et al,

(2008), mengungkapkan bahwa mekanisme penghambatan oleh senyawa terpenoid masih belum diketahui dengan jelas. Namun, dengan adanya sifat hidrofobik atau lipofilik pada senyawa terpenoid kemungkinan menyebabkan kerusakan sitoplasmik membran, koagulasi sel, dan terjadinya gangguan proton pada sel jamur.

Senyawa triterpenoid dalam ekstrak kombinasi ikut berperan dalam menghasilkan zona hambat terhadap jamur uji. Ismaini (2011) mengungkapkan bahwa senyawa triterpenoid ikut berperan dalam menghasilkan zona hambat karena sifat toksik yang dimiliki oleh senyawa triterpenoid dalam ekstrak tersebut, sehingga ketika senyawa aktif terserap oleh jamur patogen dapat menimbulkan kerusakan pada organel-organel sel, menghambat kerja enzim di dalam sel, dan pada akhirnya akan terjadi penghambatan pertumbuhan jamur patogen.

Candida albicans merupakan organisme eukariotik dengan struktur fisik yang terdiri dari dinding sel, membrane sel, sitoplasma dan nukleus. Membrane sel terdiri dari fosfolipidganda (lipid bilayer), lapisan terluar kaya akan *phosphatidyl*, kolin, ergosterol dan *sphingolipids*. Ergosterol diduga dapat menahan lisis akibat peningkatan tekanan osmotik. *Sphingolipids* mengandung komponen negatif paling besar pada membrane plasma dan memegang peranan penting sebagai target antijamur. Dinding sel *C.albicans* terdiri dari komponen utama berupa lemak dan garam anorganik. Kitin memiliki peran penting dalam menjaga

intergritas dinding sel *C. albicans* sehingga zat antijamur tidak dapat masuk ke sitoplasma maupun nukleus sel.

Faktor virulensi dari C. albicans juga dapat mempengaruhi hasil pengujian aktivitas antijamur ekstrak racik etanol kombinasi (Ac), (As) dan (Cm) Faktor virulensi ini merupakan faktor yang berperan penting dalam pathogenesis C. albicans. Adapun faktor-faktor tersebut diantaranya perubahan morfologi, kemampuan adhesi jaringan, secreted aspartyl proteases (SAP), sekresi phospholipase, perunahan fenotipik dan pembentukan biofilm. C. albicans membentuk klamidospora yaitu spora aseksual pada bagian ujung hifa yang membentuk dinding tebal dan tampak seperti gram positif sehingga sulit ditembus oleh senyawa antijamur. Protein pada permukaan dinding sel Candida juga berperan penting dalam interaksi sel dengan lingkungan, termasuk proses adhesi. Adhesi merupakan tahap awal kolonisasi dan infeksi. Struktur yang berperan adalah adhesion, fimbria, kitin, dan molekul mirip integrin. Bentuk miselium bersifat lebih adhesif dan mensekresi enzim hidrolitik yang lebih banyak. SAP meningkatkan kemampuan Candida untuk melakukan kolonisasi dan menghindari dari zat yang berpotensi membahayakan hidupnya. Candida dapat bertransisi menjadi hifa atau miselial atau filamentous. Transisi ini dapat memudahkan Candida menghasilkan SAP dan fosfolipase yang dapat meningkatkan kemampuan invasi.

Pernyataan ini sangat relevan dengan firman Allah yang mengatakan bahwasanya penciptaan langit dan bumi terdapat tanda-tanda kebesaran Allah bagi mereka yang mau berfikir. Sebagaimana firman-Nya dibawah ini:

إِنَّ فِي خَلْقِ ٱلسَّمَوَاتِ وَٱلْأَرْضِ وَٱخْتِلَفِ ٱلَّيْلِ وَٱلنَّهَارِ لَأَيَّنَ لِلْأُولِى ٱلْأَلْبَبِ ۚ اللَّهَ وَيَنَمَا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ ٱلسَّمَوَاتِ وَٱلْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَنذَا بَنظِلاً شُبْحَننَكَ فَقِنَا عَذَابَ ٱلنَّار ﴿

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 keadan 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 (QS. Ali Imran 190-191).

Berdasarkan pengertian ayat diatas, Allah memerintahkan kepada manusia yang telah diberi kelebihan akal untuk meneliti dan mengkaji segala sesuatu yang ada dilangit dan di bumi, karena sesungguhnya setiap sesuatu yang diciptakan oleh Allah terdapat tandatanda kekuasaan-Nya bagi mereka yang berakal. Allah menciptakan langit dan bumi bukanlah suatu hal yang sia-sia, melainkan memiliki banyak manfaat dan harus dimanfaatkan.

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

jelas bahwa hasil penelitian ini setidaknya dapat memberikan petunjuk kepada kita semua untuk menemukan alternatif baru dalam pemanfaatan dan pemeliharaan sumber daya hayati yang ada tanpa harus merusaknya yaitu dengan ditemukannya potensi antioksidan dan antifungi dari kombinasi tumbuhan (Ac), (As) dan (Cm) terhadap Candida albicans.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

- 1. Hasil uji antioksidan dari ketiga ekstrak yang diuji menunjukkan terdapat pengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Secara berurutan yang menghasilkan IC₅₀ paling besar adalah kombinasi 2 aktivitas antioksidannya tergolong aktif, kombinasi 3 menunjukkan aktivitas antioksidannya tergolong kuat. Dan kombinasi 1 menunjukkan aktivitas antioksidannya tergolong kuat.
- 2. Hasil uji antifungi dari ketiga ekstrak yang diuji menunjukkan terdapat pengaruh terhadap aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*. Hasil pengukuran cakram disk konsentrasi 100% menunjukkan kombinasi 1 yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 5,44 mm kategori sedang. Kombinasi 2 yang menghasilkan zona hambat sebesar 4,08 mm kategori sedang dan kombinasi 3 yang menghasilkan zona hambat sebesar 3,05 mm kategori sedang. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol kombinasi 1, 2, dan 3 terhadap jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 0,39%, sedangkan konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada konsentrasi 0,78%.

5.2 Saran

- 1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan senyawasenyawa murni dengan metode uji antioksidan yang lainnya.
- 2. Perlu diperkecil kembali konsentrasi untuk menentukan KHM dan KBM untuk lebih mengetahui dengan pasti % konsentrasi yang dapat menghambat *Candida albicans* dari masing-masing kombinasi ekstrak.





DAFTAR PUSTAKA

- Abas, F. 2005. A Labdane Diterpene Glucoside from the Rhizomes of *Curcuma mangga*. Universiti Putra Malaysia. Selangor, Malaysia.
- Agusta, Andria. 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia . Bandung : ITB Press, hal 1-7
- Alfiana D. H. 2013. Ekstraksi Minyak Melati (*Jasminum Sambac*) (Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). Skripsi. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Al-Jauziyah, I.Q., 2007, Metode Pengobatan Nabi SAW, Penerjemah: Abu Umar Basyier Al-Maidani, Jakarta: Griya Ilmu
- Amelia, P. 2011. Isolasi, elusidasi struktur dan uji aktivitas antioksidan senyawa kimia dari daun Garcinia benthami Pierre. *Tesis Universitas Indonesia*. (Online). (23 Agustus 2015, 10:45).
- Anigu SO, Binda LG, Nwinyi FC, and OrisadipeA. 2005. Anti-diarrhoeal and ulcer-protective effects of the aqueous root extract of Guiera senegalensis in rodents. *J. Ethnopharmacology*, 97: 549-554.
- Anisah, et al. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rimpang Jeringau (Acorus calamus L.) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherchia coli.
- Ankri S, Mirelman D. 1999. *Antimicrobial properties of allicin from garlic*. Microbes and Infection. 1:125–129.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official. Washington DC. Agricultural Chemists
- Arenas R, 2001. Estrada R. Tropical Dermatology. Georgetown: Landes Bioscience.
- 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 (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
- Arisandi, Yohana dan Andriani, Yovita. 2008. Khasiat Tanaman Obat. Jakarta : Pustaka Buku Murah
- Arundhina, Elisabeth. 2014. Skripsi Aktifitas Ekstrak Etanol Daun Alamanda (Allamanda cathartica L.) Sebagai Antijamur Terhadap Candida albicans Dan Pityrosporum ovale Secara In Vitro. Universitas Atma

- jaya Yogyakarta fakultas teknobiologi program studi biologi Yogyakarta.
- Asda, Nur Wardani. 2009. Efek bawang putih (Allium sativum) dan cabe jawa (Piper retrofractum Vahl.) terhadap jumlah limfosit pada tikus yang diberi suplemen kuning telur. Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiyah. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Kusumawati R, Tazwir, Wawasto A. 2008. Pengaruh perendaman dalam asam klorida terhadap kualitas gelatin tulang kakap merah (*Lutjanus* sp.). Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan 3(1):1-6.
- Nur, A.M., Astawan, M. 2011. Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) Dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, Pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar. Skripsi. Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Institut Pertanian Bogor.
- Azzahra, V. L. 2015. Skripsi Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.), Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*), Umbi Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Ramuannya.
- Basyier, Abu Umar. 2011. Kedokteran Nabi Antara Realita & Kebohongan. Surabaya: Shafa Publika.
- Basyier, Abu Umar. 2011. *Kedokteran Nabi Antara Realita & Kebohongan*. Surabaya: Shafa Publika.
- Bautistuta dan Aycardo, 1979. O.K. and H.B. Aycardo. 1979. Ginger Its Production Handling Processing and Marketing with Emphasis on Export. Dept. of Hortic. College of Agric. UPLB, Los Banos, Phillipines. 80 p.
- Berkhout,R.,1923, Candidaalbicans, http://www.doctorfungus.org/thefungi/Candida_albicans.php, 30 Maret 2015.
- Bindusari, A., Suyoso, S. 2001. Terapi kandidiasis vulvovaginal. Berkala ilmu penyakit kulit & kelamin FK Unair Desember; 13(3): 147-55.
- Brand-Williams, W. 1995. *Use Of Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity*. London: Elsivier Applied Science.Lebensmettel-Wissenscahft Andtechnologie.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's. 2004. Medical Microbiology. 23 rd Edition. Singapore: McGraw-Hill; 39-40, 58-9, 431-4.

- Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2005. Medical Microbiology. Mc Graw Hill, New York
- Buhler, D.R., and Miranda, C., 2000, *Antioxidant activities of Flavonoid*, Department of Environmental and Molecular Toxicology Oregon State University, Oregon
- Cholisoh, Z., & Utami, W. 2009. Aktivitas penangkapan radikal ekstrak etanol 70% biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Pharmacon*. 9(1): 33-40
- Continuing Profesional Development Dokter Indonesia. 2008. Konsumsi Makanan Berkolesterol Dapat Sebabkan Hiperlipidemia. Sep (cited 2009 Jan 17). Available from URL: http://cpddokter.com/home/i
- Cushnie TP dan Lamb AJ. *Antimicrobial activity of flavonoids*. International Journal of Antimicrobial Agents. 2005; 26(5): 343-56.
- Dadang, B.W. Nugroho, & D. Prijono (Penyunting). Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu. Institut Pertanian Bogor, Bogor, 9-13 Agustus 1999.
- Darmawan, A. & Artanti, N. 2009. Isolasi dan identifikasi senyawa aktif antioksidan dari ekstrak air daun Benalu yang tumbuh pada Cemara. (*Online*). (01 agustus 2015).
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. Profil kesehatan 2005. Jakarta
- Dewi, D. C., 2007, Rahasia Dibalik Makanan Haram. Malang: UIN Press Malang
- Dwijayanti, K.R. 2011. Daya Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Bl.) Terhadap *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. SKRIPSI. Universitas Sanata Dharma: Yogyakarta.
- Dzulkarnain, B., D. Sundari dan A. Chosin. 1996. Tanaman Obat Bersifat Antibakteri di Indonesia. Cermin Dunia Kedokteran (110). Dep. Kesehatan RI. Jakarta.
- Ebadi, M. 2006. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. 2nd ed. New York: Taylor & Francis Edition. Stuttgart: Thieme; 2005. 362-4.
- Effendi dan Emmyzar, 1997. Pemeliharaan Tanaman Jahe. Monograf. (3): 84 91.
- Emilan, T., Kurnia, A., Utami, B., Diyani, L.N., Maulana, A., 2011. Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal. Depok: FMIPA Farmasi Program Studi Magister Ilmu Herbal; Skripsi Indra Farida, 2013. Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Alang-Alang (Imperata cylindrical) Sebagai Larvasida Nyamuk (Aedes aegypti L.) Instar III.

- Evennett. 2006. Tradicional preservatives-oil and spices. Encylopedia of food mycrobiology volume 1. Academy Press London
- Fardiaz, S., 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Faroogi, 2005. Terapi Herbal Cara Islam. Jakarta: Mizan publik
- Fessenden, R.J. & Fessenden, J. S. 2012. Kimia Organik. Diterjemahkan oleh A.H. Pudjaaymaka. Institute Teknologi Bandung: Bandung.
- Freiesleben S dan Jäger A. Correlation between plant secondary metabolites and their antifungal mechanisms-a review. Midicinal and Aromatic Plants. 2014; 3(2): 1.
- Gebreyohannes, G., 2013. Fate of β-asarone in Ayurvedic Sodhana process of Vacha. J ayuveda Integr Med Reid
- Gordon, M.H. 1990. The Mechanism of antioxidant action in vitro. Di dalam: Hudson BJF, editor. Food Antioxidant. London. Elsevier Appl. Science.
- Gusmaini, Yusron, M., dan Januwati, M., 2004. Teknologi Perbanyakan Benih. Sumber Temu Mangga: Perkembangan Teknologi TRO XVI (1).
- Hadioetomo, R. S. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Hanani E, Mun'im A, Sekarini R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam Spons Callyspongia sp. dari Kepulauan Seribu. Majalah Ilmu Kefarmasian (3):127-133
- Hapsari, F. D. 2008. Analisis Minyak Atsiri daun Sirih Dan Uji Aktivitas Antioksi dannya. Skripsi Tidak Diterbitkan. Bandung: Program Studi Kimia Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia, terjemahan K. Radmawinata dan I. Soediro, penerbit ITB, Bandung, 69-94, 142-158, 234-238. 11.
- Hariana. 2006. Tumbuhan Obat & Khasiatnya 3. Jakarta: Swadaya
- Harrizul R., Ernita W.S., dan Rusdi. 2013. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air Terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total Dan Daya Antioksidan Dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi* hal 35-42. ISSN: 1410-0177.
- Hartati, Sri, Atiek Soemiati dan Eka Irmawati A. 2012. Isolasi β-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. Ensklopedia Tanaman Obat Indonesia. Yogyakarta: Palmall.
- Heinrich, M.; Barnes, J.; Gibbsons, S.; & Elizabeth, M. W. 2008. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Heo, S. J., S. H. Cha., K. W. Lee., S. K. Cho. And Y. J. Jeon. 2005. Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island. Algae, 20 (3): 251-260
- Hernani dan Rahardjo. 2002. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Swadaya. Jakarta.
- Hernani dan Suhirman, 2001. Diversifikasi Hasil Tanaman Temu Mangga (Curcuma mangga Val.) secara Terperinci. UI. Jakarta.
- Imani, A.K.Q. 2005. Tafsir Nurul Quran Sebuah Tafsir Sederhana Menuju Cahaya Al-Quran. Penerjemah Salman Nano. Bandung:STKS press
- Ismaini, L. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak (*Centella asiatica* (L.) Urban Terhadap Fungi Pathogen Pada Daun Anggrek (*Bulbophyllum flavidiflorum* Carr). Jurnal Penelitian Sains. Vol 14 No 1.
- Ismayani. 2012. Kajian Tanaman Obat Dari Aspek Biologi (Taksonomi), Pertanian, Kandungan Kimia Dan Aktivitasnya. Universitas Hulueleo.
- Isnindar, Wahyuono, s., & setyowati, E. P. 2011. Isolasi danidentifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros kaki* Thumb.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. 16(3), 157-164.
- Istya, Rizki Ariningsih. 2009. Isolasi Streptomyces Dari Rizosfer Familia Poaceae yang berpotensi menghasilkan Antijamur Terhadap Candida albicans. Skripsi Tidak Diterbitkan. Surakarta: Universitas Muhammadi yah Surakarta
- Jawetz, E., J. L. Melnick dan E. Adelberg. 2005. Mikrobiologi Kesehatan. Penerbit Buku Kesehatan. Jakarta.
- Jun, M.H.Y., J., Fong, X., Wan, C.S., Yang, C.T., Ho. 2003. Comparion Of Antioxidant Activities Of Isoflafones Form Kudzu Root (Puerarua labata O). Journal Food Science Institute Of Technologist. 68:2117-2122.
- Kardinan, Agus, 2004. Pestisida Nabati, Ramuan dan Aplikasi. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Karou D, Savadogo A, Canini A, Yameogo S, Montesano C, Simpore J, et al. Antibacterial activity of alkaloids from Sida acuta. African Journal of Biotechnology. 2005; 4(12): 1452-7.

- Kartasapoetra. 1992. Tanaman Berkhasiat Obat. Jakarta: Bumi Aksara
- Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernage RM. Medical microbiology. 10th Edition. Stuttgart: Thieme; 2005. 362-4.
- Kemper,K.J. 2000. Garlic (Allium sativum). Longwood Herbal Task Force. http://www.mep.edu/herbal/default.htm). (Diakses pada tanggal 4 Mei 2015)
- Kochhar, S. P and J. B. Rossell. 1990. Detection, Estimation and Evaluation of Antioxidants in Food Systems. Di dalam: Hudson, B.J.F (Ed).Food Antioxidants. New York: Elsevier Applied Science
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Schreckenbergerr, P.C., Winn, W.C., 1997, Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th Edition, 840-841, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
- Kosim, M dan Putra, S. (2010). Pengaruh Suhu pada Protease Dari Bacillus Subtilis. Skripsi. Jurusan Kimia FMIPA ITS. Diterbitkan.
- Kurniawan, Dwi. 2015. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk*.) terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro. Naskah publikasi. Universitas Tanjungpura: Pontianak
- Kuswadji Kandidosis. 1999. Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin. Jakarta: FK UI
- Kuswadji, Kandidosis. Dalam : Djuanda Adhi, Hamzah Mochtar, Aisah Siti. Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin, Edisi ketiga, Jakarta, FK UI, 1999 : 103-6.
- Liang, OB., Y. Wijaya, dan S. Puspa, 1985, Beberapa aspek isolasi identifikasi, dan penggunaan komponen-komponen Curcuma xanthorrhiza Roxb. Dan Curcuma domestika Val. Prosiding simposium nasional temulawak, Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran, Bandung.
- Limbong, Theresia. 2007. Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Batang Pakettu (Ficus superba Miq) Terhadap Folikulogenesis Ovarium Mencit (Mus musculus). Dalam abstrak jurnal penelitian. Surabaya : Universitas Airlangga
- Lingga ME dan Rustama MM. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak air dan etanol bawang putih (Allium sativum L.) terhadap bakteri Gram negatif dan Gram positif yang diisolasi dari udang dogol (Metapenaeus monoceros), udang lobster (Panulirus sp.) dan udang rebon (Mysis dan Acetes). [internet]. Jurnal Biotika. 2005. http://jurnal.unpad.ac.id/biotika/article/view/337. Diakses pada 2 April 2015.
- Liu J dan Nes W D. Steroidal triterpenes: design of substrate-based inhibitors of ergosterol and sitosterol synthesis. Molecules. 2009; 14(11): 4690-706.

- Lu Y., Foo F.Y. 2000. Antioxidant And Radical Scavenging Activities Of Polyphenol Fromapple. Journal Of Food Chemistry, 68: 81-85.
- Lubis, Ramona D. 2008. *Pengobatan Dermatomikosis*. Departemen Ilmu kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. USU press
- Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., Clark D.P. 2012. Biology of Microorganism. 13th ed. San Francisco: Pearson. P. 140-141
- Mahmud, et all. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (Mungtingia calabura L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Penyebab Penyakit Mastitis Pada Sapi Perah.
- Mahran, Jamaludin. 2006. Al-Quran Bertutur Tentang Makanan dan Obat-obatan. Yogyakarta: Mitra Pustaka.
- Ma'mun, S., Suhirman, F., Manoi, B. S., Sembiring., Tritianingsih, M., Sukmasari, A., Gani., Tjitjah, F., dan Kustiwa, D. 2006. Teknik Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Purwoceng. *Laporan Pelaksanaan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Tahun 2006.* Hal. 314-324
- Marsh, R. M., and Mannari, H. (1977). Organizational Commitment and Turnover: A Prediction Study. Administrative Science Quarterly, Vol. 22, No.1, 57-75.
- McKane, L., and J. Kandel, 1996, Microbiology: Essentials and Applications, 396-398 Mc Graw Hill Inc., New York.
- Middleton, E., dan K. Chitan. 1994. The Impact of Plant flavonoids on Mammalian Biology: Implication for Immunity, Inflammation, and Cancer. Di dalam Harborne, J. B. (ed.). The Flavonoids. Chapman and Hall. London.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenypicryl hydrazyl (DPPH) forestimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Muchtaromah, Bayyinatul dkk. 2014. Screening Tumbuhan Obat Madura yang Mempunyai Aktivitas Fertilitas. Proposal Penelitian Penguatan Program Studi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mukhopadhiay, M. 2000. Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide. CRC Press, London, New York.
- Narins, B., Learner, BW. 2003. World of imunnology mikcrobiology (online) http://www.oogle.co.id/url?sa=t&=j&g=narins%20candida&source=wediaskes pada tanggal 3 september 2015.

- Nasucha, L. 2007. Pengaruh Infus Daun Papaya (*Carica papaya* L) Terhadap Jumlah Koloni Jamur *Candida albicans* (Online) http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:W2vVjTjzpjYJ:digilib.umm.a diakses pada tanggal 15 Agustus 2015.s
- Nata, L., Orapin., Krittika dan Pantip.1995. Essensial Oil From Zingiberaceae For Antifood Borne Bacteria. International Food Research Journal, 15, (3), 337-346.
- Natta, L., Orapin., Krittika dan Pantip. 2008. Essensial Oil From Zingiberaceae For Anti Food-Borne Bacteria. International Food Research Journal. 15, (3), 337-346.
- Nurhafani F. Perbandingan potensi antimikroba ekstrak n-heksana daun kelor (Moringa oleifera) dengan kulit biji (pericarp) jambu mete (Anacardium occidentale) terhadap bakteri Pseudonomonas aeruginosa. [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya; 2012.
- Onasis, Aidil, 2001.Pemanfaatan Minyak Jeringau (Acorus Calamus L) UntukMembunuh Kecoak (Periplaneta Americana). Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Padua, L. S., Bunyapraphatsara, N and Lemmens, R. H. M. J. 1999. Plant Resources of South-East Asia. 12 (1): 81-85. Prosea, Bogor.
- Pambayuan, RA., Gardjito, M., Sudarmadji, S., Kuswanto, K.R. 2007. Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (*Unixaria gambir* Roxb.) Majalah Farmasi Indonesia 3: 11-146; Skripsi Indra Farida, 2013. Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Alang-Alang (*Imperata cylindrical*) Sebagai Larvasida Nyamuk (*Aedes aegypti* L.) Instar III.
- Pan, X, Chen, F., Wu,T., Tang, H., and Zhao,Z. 2009. The acid, Bile Tolerance and Antimicrobial property of Lactobacillus acidophilus NIT. J. Food Control 20: 598-602
- Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H., and Zhao, Z. 2009. The acid, Bile Tolerance and Antimicrobial property of Lactobacillus acidophilus NIT. J. Food Control 20: 598-602.
- Panagan, A.T. 2011.Pengaruh Penambahan Tepung Wortel (*Daucus carrota* L.) Terhadap Bilangan Perioksidan Dan Asam Lemak Bebas Pada Minyak Goring Curah. *Jurnal Penelitian Sains*. (Online). (26 Agustus 2015, 15:59).
- Parker, V., Agustine, S.H. O., And Niki, E. 1995. Nutrition, Lipids, Health, and Disease. Champaign: AOCS Press.

- PCARR, 1980. The Phillipines recommends for ginger. Phillipines council for agric and resources research. Los Banos. Phillipines.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E. C. S., 2006, Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 2, UI Press, Jakarta.
- Pietta,2000.JournalNaturalProduct631035.http://nfscfaculty.tamu.edu/talcott/Food Chem 605/Class Presentation Papers/Review- Flavonoids as AOX.pdf
- Poeloengan, Masniari, Andriani, Susan M Noer, Iyep Komala & Mirza Hasna, 2007, Uji daya antibakteri ekstrak etanol kulit batang bungur (Largerstoremia speciosa Pers) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli secara in vitro, Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor, diakses 8 November 2013, http://bbalitvet.litbang.deptan.go.id/ind/attachments/247_80.pdf.>
- Prakarsh, *at al.* 2001; Amelia. 2011. Isolasi, elusidasi struktur dan uji aktivitas antioksidan senyawa kimia dari daun Garcinia benthami Pierre. *Tesis Universitas Indonesia*. (Online). (23 Agustus 2015, 10:45).
- Prakash, A., 2001, Antioxidant Activity, Analytical Progress, 19 (2) 1-4.
- Praptiwi, Dewi, p, & Harapini, M. 2006. Nilai perioksida dan aktivitas antioksidan radikal bebas diphenyl picril hydrazil hydrate (DPPH) ekstrak metanol Knema laurina. Majalah farmasi Indonesia. 17(1): 32-36. (Online). (Agustus 2015, 13:5).
- Prescott, Hrley. 2002. Labolatory Exercises In Microbiologi Fifth Edition. The Me Grow Hill Companies.
- Pujimulyani D, Wazyka A, Anggrahini S, Santoso U. 2004. Antioxidative properties of white saffron extract (Curcuma mangga Val) in the β-carotene bleaching and DPPH-radical scavening methods. Indonesian Food and Nutr. Progress. II(2): 35-40
- Purseglove E.G. Brown, C.L. Green, and S.R.J. Robins. 1981. Spices. Vol. 2. Longman, New York. 813pp.
- Rahayu, D.S., Dewi, K., Enny, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (Terminalia Catappa L.) Dengan Metode 1,1 Difenil 2 Pikrilhidrasil (DPPH). Skripsi diterbitkan. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.
- Robinson. 1995. Phyto-chemistry in Plants. Di dalam Naidu, A. S. (ed). 2000. Natural Food Microbial Systems. CRC Press. USA.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyemat Sel-sel Tubuh Manusia. BioTrens, Vol.4. No.1. (*Online*). (02 agustus 2015,15:53).

- Rukmana, R. 2004. Temu-temuan Apotik Hidup di Perkarangan. Kanisius. Yogyakarta.
- 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
- Safithri M. 2004. Aktivitas antibakteri bawang putih (Allium sativum) terhadap bakteri mastitis subklinis secara in vitro dan in vivo pada ambing tikus putih (Rattus Novergicus) [tesis]. Bogor: Sekolah pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Savitri, Evika Sandi. 2008. Khasiat tumbuhan Berkhasiat Obat Prespektif Islam. Malang: UIN Malang Press
- Setyaningrum Ariviani, MAM. Andriani, dan Fitri yani. 2013. Potensi Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Sebagai Minuman Fungsional. Jurnal Teknosains Pangan Vol 2 No 3 Juli 2013.
- Shihab, M.Q. 2002. Tafsir Al-Misbah; pesan dan keserasian Al-Qur'an volume 11 Dan 15. Jakarta: Lentera Hati
- Sinambela, J.M. 1985. Fitoterapi, Fitostandart dan Temulawak dalam prosding symposium Nasional Temulawak UNPAD 17-18 september . 2003. Bandung Hlm 174-178
- Sinambela, J.S. 2003. Standarrisasi sediaan obat herba. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII. Universitas Pancasila. Jakarta. Hal.10
- Siswandono dan Soekardjo, B., (2000). Kimia Medisinal . Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. hal. 291.303
- Solihin. 2009. Manfaat Bawang Putih. Media Management. Jakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 2003. *Prosedur Analisa Bahan Makanan* Sudewo. 2006. Basmi Penyakit dengan Sirih Merah. PT. AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Sudiarto K.Mulya, Gusmaini, H. Muhammad, N. Maslahah dan Emmyzar. 1998. Studi Peranan Bahan Organik dan Pola Tanam Organik Farming untuk Kesehatan dan Produktivitas Jahe. Lap.Tek Balittro. 51 – 58.
- Suganda, Asep Gana,. Elin Yulinah Sukandar,. dan Asep Abdul Rahman. 2003. Aktivitas Antibakteri Dan Antifungi Ekstrak Etanol Daun (Allamanda cathartica, L.) Dan (Allamanda neriifolia) Hook. Bandung: Departemen Farmasi FMIPA-ITB. Jurnal Bahan Alam Indonesia ISSN 1412-2855 Vol. 2. No. 3
- Suheimi. 2007. Fisiologi Folikulogenesis dan Ovulasi. Dalam makakah pada symposium pertemuan ilmiah.

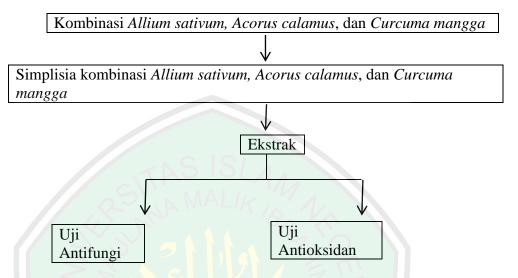
- Sunarni, T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkapan Radikal Bebas Beberapa kecambah dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. Jurnal Farmasi Indonesia 2, (2), 53-61.
- Supari, F. 1996. Radikal Bebas dan Patofisiologi Beberapa Penyakit. Di dalam Zakaria F.R., R. Dewanti, dan S. Yasni (Edt.). Di dalam : Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan : Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB dengan Kedutaan Perancis. Jakarta.
- Suradikusumah, E. 1989. Kimia Tumbuhan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Ilmu Hayat, IPB. Bogor.
- Suriana, Neti. 2011. Bawang Bawa Untung Budi Daya Bawang Merah Dan Bawang Putih. Yogyakarta : Cahaya Atma Pustaka
- Suryohudoyo, P (2000) Oksidan, antioksidan dan radikal bebas. Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekular, Jakarta, Info Medika.
- Syamsiah IS, Tajudin. 2003. Khasiat & Manfaat Bawang Putih Raja Antibiotic Alami. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Syamsuhidayat, S.S and Hutapea, J.R, 1991, Inventaris Tanaman Obat Indonesia, edisi kedua, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Tamat, S.R., Wikanta, T., Maulina, L.S., 2007, Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dariEkstrak Rumput Laut Hijau Ulva reticula Forsskal, Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, (online) 5 (1), 31 36, http://jifi.ffup.org/wp-content/uploads/2012/03/5.-lina-31-36.pdf, Diakses Tanggal 10 Oktober 2012
- Tedjo, A., Sajuthi, D., dan Darusman, L. 2005. Aktivitas Kemoprevensi Ekstrak Temu Mangga. Jurnal Makara, Kesehatan, 9(2): 57-62
- Tewtrakul, S. and S. Subhadhirasakul. 2007. Anti-allergic Activity of Some Selected Plants in The Zingiberaceae Family. Journal of Ethnopharmacology 109, 535-538.
- Thomson, H. 2007. PDR for Herbal Medicine (garlic), 4th ed. Montvale : Thomson Healthcare inc
- Thomson, M., dan Ali, M. 2003. Garlic [Allium sativum] :a review of its potential use an anticancer agen. Current cancer drug target, 3(1), 67-81. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12570662
- Tjitrosoepomo, G. 1994. Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan. Cetakan I. Gajah Mada university Press. Yogyakarta

- Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L., 2001. Microbiology An Introduction, 7th ed. San Francisco: Benjamin Cummings
- Tortora, G. J., funke, B. R., and Case, C. L.2004.Microbiology an Indoduction Eight Third.San Francisco Boston: Person Benjamin Cumming
- Utami, Ulvah. 2005. Laporan penelitian isolasi bakteri endofit penghasil antimikroba dari tanaman Rizhopora mucronata (makna tersirat Q.S. ali Imran; 190-192).. malang: Universitas islam Negeri UIN malang.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. FLORA. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Voight, R., 1994, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Penerjemah Soendari, N.S., Yogyakarta: Gajahmada University Press.
- Volk, Wesley. A and Wheeler, Marghareth. 2003, "Dasar dasar Mikrobiologi", terj, Judul Asli Basic Mikrobiology, editor Adisoemarto, S., Puslitbang Bioteknologi LIPI, Bogor.
- Warsiati, wijiasih, febriani, A., W.D.Rizka, A. 2010. Acuan Sediaan Herbal Edisi Pertama Volume Kelima. Jakarta: BPOM RI; Skripsi Indra Farida, 2013. Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Alang-Alang (Imperata cylindrical) Sebagai Larvasida Nyamuk (Aedes aegypti L.) Instar III.
- Warsinah, Eka Kusumawati, Sunarto. 2011. Identifikasi Senyawa Antifungi Dari Kulit Batang Kecapi (Sandoricum koetjape) Dan Aktivitasnya Terhadap Candida albicans. Majalah Obat Tradisional
- Widyaningsih, W. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (Gynura procumbens) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). [Prosiding Seminar Nasional Kosmetika Alami].
- Wikipedia, Candida albicans. http://wikipedia.org/wiki/candida_albicans.
- Winarsi, Hery.,et al. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan. Yogyakarta: Kanisius
- Wulansari dan Cahirul, 2011. Wulansari, D. dan Chairul, 2011, Penapisan Aktivitas Antioksidan dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal 2,2 -Diphenyl-1 Picrylhydrazyl (DPPH), Majalah Obat Tradisional, 16 (1) 22–2
- Yuhernita & Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. MAKARA, SAINS. 15 (1): 48-52.
- Zuhra, C.F., Tarigan, J. & Sihotang, H. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa Flavonoid dari daun Katuk (*Sauropus androgynous* (L) Merr). *Jurnal Biologi Sumatra*. ISSN: 1907-5537; 3(1): 7-10. (*Online*). (09 Agustus 2015, 01:09).

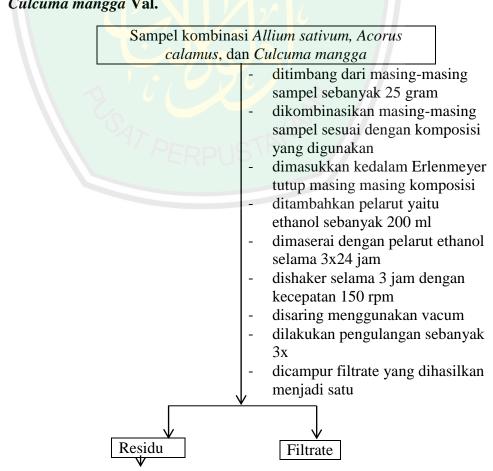
LAMPIRAN

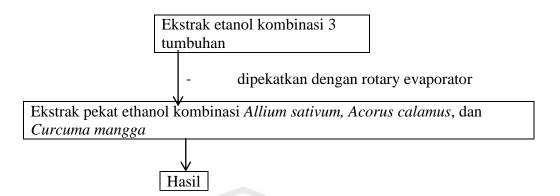
Lampiran 1. Skema Kerja

• Diagram Alir Skema Penelitian



• Preparasi dan ekstraksi sampel Allium sativum, Acorus calamus, dan Culcuma mangga Val.





• Penentuan kadar Air

Cawan

- diambil silika dari desikator
- dituang silika yang ada didalam desikator diloyang bersih
- dioven selama 30 menit dengan suhu 100°C
- ditimbang cawan (diberi label I,II,III)
- ditimbang cawan yang telah diberi label
- dimasukkan cawan ke dalam oven selama 30 menit dengan suhu 100°C
- ditimbang simplisia sebanyak 1,5 gr
- diangkat silika setelah 30 menit dioven dan didiamkan selama 20 menit
- dimasukkan ke dalam desikator setelah 20 menit didiamkan
- dimasukkan cawan yang telah dioven langsung ke dalam desikator selama 15 menit dan divacum sebentar
- diambil cawan yang telah ada di desikator selama 15 menit
- ditimbang berat cawan dan sampel
- dihitung kadar air dengan rumus :

Kadar air =
$$(b-c)$$
 x 100% (b-a)

Hasil

• Perhitungan Kadar Air Sampel Kombinasi Racik Sendiri

1. Pengukuran Berat Cawan Sampai Konstan setelah dikeringkan

Illongon	Berat cawan kosong (g)				
Ulangan	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3		
Ulangan 1	53,1649	57,7067	57,4678		
Ulangan 2	53,1582	57,7045	57,4644		
Ulangan 3	53,1601	57,7036	57,4672		
Ulangan 4	53,1607		57,4653		
Ulangan 5	53,1582				

2. Pengukuran Berat Cawan + Sampel Ramuan Kering Sampai Konstan

Illangan	Berat cawan kosong (g) + sampel				
Ulangan	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3		
Sebelum dioven	58,1573	62,7435	62,4705		
Ulangan 1	57,7006	62,2576	62,0014		
Ulangan 2	57,6276	62,2147	62,0222		
Ulangan 3	57,6211	62,2607	62,0025		
Ulangan 4	57,6217	62,2441	61,9504		
Ulangan 5	57,6188	62,1906	61,9311		
Ulangan 6	57,6143	62,1661	61,9349		
Ulangan 7	57,6026	62,1944	61,9197		
Ulangan 8	57,6294	62,1121	61,9167		
Ulangan 9	57,5921	62,1128	61,7969		
Ulangan 10	57,5479	62,1093	61,7353		
Ulangan 11	57,5198	62,1091	61,7351		
Ulangan 12	57,5165		61,7180		
Ulangan 13	57,5106		61,7178		
	57,5074		61,7173		
	57,5058		/		

a. Kadar air cawan 1
$$= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

$$= \frac{58.1573 - 57.5058}{58.1573 - 53.1573} \times 100 \%$$

$$= \frac{0.6515}{5.0001} \times 100 \%$$

$$= 0.13 \times 100 \%$$

$$= 13 \%$$
b. Kadar air cawan 2
$$= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

$$= \frac{62.7435 - 62.1091}{62.7435 - 57.7036} \times 100 \%$$

$$= \frac{0.6344}{5.0399} \times 100 \%$$

$$= 0.126 \times 100\%$$

$$= 12.6 \%$$

c. Kadar air cawan 3
$$= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

$$= \frac{62.4705 - 61.7173}{62.4705 - 57.4653} \times 100 \%$$

$$= \frac{0.7532}{5.0052} \times 100 \%$$

$$= 0.15 \times 100 \%$$

$$= 15 \%$$

$$= \frac{13 \% + 12.6 \% + 15 \%}{3}$$

$$= \frac{40.6 \%}{3}$$

$$= 13.5 \%$$

Hasil Perhitungan Rendemen

1. Ekstrak Etanol Kombinasi 1

Berat botol koson		= 89,9428 g
Berat botol koson	g + ekstrak pekat	= 101,3057 g
Berat ekstrak pek	at	= (Berat botol kosong +
ekstrak pekat)- Be	erat botol kosong	
		= 101,3057 g - 89,9428 g
		= 11,3629 g
Rendemen	$= \frac{berat\ ekstrak\ pekat}{berat\ sampel} \times 100\%$	$= \frac{11,3629 \mathrm{g}}{100,02 g} \times 100\%$
		100,02 g
	= 11,3601% (b/b)	

2. Ekstrak Etanol Kombinasi 2

Berat botol kosong = 88,7238 g
Berat botol kosong + ekstrak pekat = 91,1020 g
Berat ekstrak pekat = (Berat botol kosong + ekstrak pekat) = (Berat botol kosong + ekstrak pekat) = 91,5920 g - 88,7238 g
= 2,8682 g = 2,8682 g
Everat sampel =
$$\frac{berat\ ekstrak\ pekat}{berat\ sampel}$$
 x 100% = $\frac{2,8682\ g}{25\ g}$ x 100% = 11,4728 % (b/b)

3. Ekstrak Etanol Kombinasi 3

Berat botol kosong = 92,0079 g
Berat botol kosong + ekstrak pekat = 94,9445 g
Berat ekstrak pekat = (Berat botol kosong +

Berat ekstrak pekat ekstrak pekat)- Berat botol kosong

= 94,9445 g - 92,0079 g

= 2,9366 g

Rendemen $= \frac{berat \ ekstrak \ pekat}{berat \ sampel} \times 100\% = \frac{2,9366 \ g}{25 \ g} \times 100\%$ $= 11,7464 \% \ (b/b)$



Lampiran 2. Uji Antioksidan dengan DPPH

- Penentuan panjang gelombang maksimum



Penentuan waktu kestabilan

Larutan ekstrak - dibuat larutan ekstrak 400 ppm sebanyak 5 ml - ditambah 1,5 ml larutan DPPH 0,1 mM - diinkubasi pada suhu 37°C - dimasukkan campuran ke dalam kuvet - diukur absorbansi pada \(\Lambda \text{maks} \) - dicari waktu kestabulan pada rentang waktu 5-20 menit.

- Pengukuran potensi antioksidan pada sampel
 - a. Absorbansi kontrol

DPPH 0,1 mM - dimasukkan ke dalam tabung reaksi DPPH 0,1 mM diambil sebanyak sebanyak 1,5 ml - ditambahkan pelarut ethanol sebanyak 4,5 ml - diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan -dipindahkan ke dalam kuvet - diukur absorbansinya pada \(\Lambda \text{maks} \)



- Pilih Dose-response Inhibition; log(inhibitor) vs. response -- Variable slope (four parameters)
 - Centang "Interpolate unknowns from standard curve" dan pilih Confidence interval dengan nilai 95%
 - Lalu pilih Compare, klik Do the best-fit values of selected parameters differ between data sets. Centang logIC50
 - Pilih Constrain, Bottom; Constant equal to 0,0 dan Top constant equal to 100

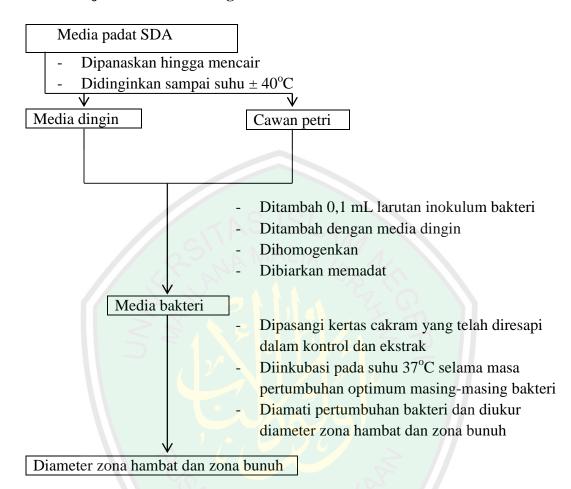
- Klik "OK"

HASIL



Lampiran 3. Skema Uji Antifungi

• Uji Aktivitas Antifungi



• Sterilisasi Alat Uji Antifungi

Sterilisasi alat

- Disiapkan alat-alat seperti cawan, Erlenmeyer 1000 ml, tabung reaksi, blue tip, yellow tip, gelas ukur 100 ml, 250 ml, spatula, penjepit dan botol flacon.
- Dicuci bersih semua alat
- Di keringkan semua alat sampai benar-benar kering
- Di bungkus cawan dengan kertas, dan alat yang lain dengan alumunium foil dan dibungkus plastik
- Dimasukkan kedalam autoklaf, suhu 121^oC dengan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Hasil

• Pembuatan Media SDA

Media SDA

- Ditimbang sebanyak 65 gram SDA
- Dilarutkan dalam 1L aquades
- Dihomogenkan dan dipanaskan selama 30 menit
- Disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

Hasil

• Pembuatan Media SDB

Media SDB

- Ditimbang sebanyak 65 gram SDB
- Dilarutkan dalam 1L aquades
- Dihomogenkan dan dipanaskan selama 30 menit
- Disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

Hasil

Pembuatan Suspensi

Biakan Murni Jamur

- diambil 1ose jamur yang telah diremajakan
- disuspensikan dalam 100 ml SDB
- diinkubasi pada suhu 37^oC selama 18-24 jam
- diukur kekeruhannya pada panjang gelombang 530nm
- jumlah sel yang digunakan setara dengan Mc Farland 0,5 ml yang setara dengan $1-5\times10^6$

HASIL

• Pembuatan Larutan Uji Metode Cakram Disk

Pembuatan larutan uji

- Ditimbang sampel sebanyak 0,1 gram ekstrak kombinasi masingmasing
- Dilarutkan dalam 0,1 ml pelarut etanol

Hasil

• Pembuatan Etanol 70%

Etanol 70%

- Dimbil etanol 96% sebanyak 7,29166666 ml
- Dimasukkan kedalam tabung 15 ml
- Ditambahkan akuades steril kedalam tabung hingga 10 ml

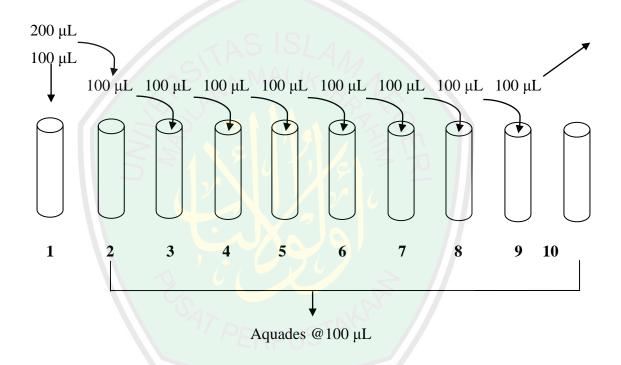
HASIL

• 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 kosentrasi 100 % (ditambah emulsion fyer/Tween 80 %)
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 200 μL di tabung no. 1
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 100 μL pada tabung no. 2
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 100 μL pada tabung no. 3
- Dimasukkan aquades sebanyak 100 μL pada tabung no. 3 sampai dengan tabung no. 10
- Dicampur (divortex) hingga rata tabung no. 3, kemudian diambil dan dipindahkan sebanyak 100 μL ke dalam tabung no. 4
- Dicampur (divortex) hingga rata tabung no. 4, kemudian diambil dan dipindahkan sebanyak 100 μL 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 μL
- Kemudian ditambahkan perbenihan cair kuman (jamur Candida 10⁶ pada media SDB) sebanyak 100 μL ke dalam tabung 2-10. Dengan demikian volume masing-masing tabung menjadi 200 μL, sehingga kosentrasi akhir antifungi berubah.
- Dari pengenceran di atas, maka kosentrasi awal dari masing-masing tabung (antifungi) berubah menjadi seperti terlihat pada skema berikut:



Keterangan tabung:

- 1. Kontrol Bahan (KB)
- 2. Ekstrak kosentrasi 50 %
- 3. Ekstrak kosentrasi 25 %
- 4. Ekstrak kosentrasi 12 %
- 5. Ekstrak kosentrasi 6,25 %

- 6. Ekstrak kosentrasi 3,13 %
- 7. Ekstrak kosentrasi 1,56 %
- 8. Ekstrak kosentrasi 0,78 %
- 9. Ekstrak kosentrasi 0,39 %
- 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

• Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Hasil KHM

- Ditanam isi tabung no. 2-10 (0,1 mL) yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan (kekeruhan) pada medium SDA (tabung yang jernih = positif KHM) dengan metode strike hitungan
- Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam
- Dihitung jumlah koloni pada setiap cawan menggunakan Colony Counter
- Disebut KBM jika pertumbuhan koloni kuman 0,1 % dari jumlah koloni kontrol kuman (kuman mati sejumlah 99,9 %)

HASIL

• Perhitungan Koloni Jamur Secara "Streak Plate"

Hasil KHM

- Diambil biakan koloni setelah diinkubasi selama 18-24 jam
- Dihitung koloni dengan standart plate count yaitu 30-300 koloni per cawan
- Diambil coloni secara acak sebanyak 3-5 koloni dan dihitung jumlah koloni
- Dijumlah koloni yang telah dihitung dan dicari rata-rata
- Dikali 60

HASIL

Lampiran 4. Pengukuran absorbansi maksimum larutan DPPH 0,1 mM dalam 10 ml etanol p.a

> Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Mr DPPH = 394,33 g/mol

= 394,33 mg/mmol

Mol DPPH $= 5 \times 0.1 \text{ mM}$

 $= 5 \times 0.1 M$

1000

= 0.0005 mmol

Mg DPPH = 0,0005 mmol x 394,33 mg/mmol

= 0.19717 mg

> Pembuatan stok DPPH 0,1 mM dalam 10 ml

Mr DPPH = 394,33 g/mol

= 394,33 mg/mmol

 $Mol DPPH = 10 ml \times 0.1 mM$

 $= 10 \text{ ml x } \frac{0.1}{0.1} \text{ mM}$

1000

= 0.001 mmol

Mg = 0.001mmol x 294,33 mg/mmol

= 0.394,33 mg

Diambil 0,197165 mg senyawa DPPH, dilarutkan dengan sedikit etanol p.a. Setelah itu, dimasukkan labu ukur 5 mL, ditambah dengan etanol p.a hingga tanda batas (miniskus cekung) menggunakan pipet tetes, kemudian dihomogenkan.

Keterangan: membuat larutan DPPH 5 ml untuk mengukur lamda maks (λ_{maks}), sedangkan DPPH untuk kontrol dan sampel dibuat dalam 10 ml dengan perhitungan yang sama (catatan: massa DPPH= 0,39433 mg; dibulatkan menjadi 0,4 mg).

Cara Pembuatan Stok Larutan Ekstrak Kombinasi Racik sendiri 500 ppm

500 ppm = 500 mg/L

- = 500 mg/1000 mL
- = 5 mg/10 mL atau 2,5 mg/5 mL

<u>Keterangan</u>: Stok 5 mL dibuat untuk optimasi waktu sampel dan 10 mL untuk pengenceran sampel ekstrak rimpang jeringau 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm.

- Cara Pengenceran Ekstrak Kombinasi Racik sendiri 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm
- > Pembuatan Sampel 400 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan:

 V_1 = volume yang diambil untuk pengenceran

 V_2 = volume larutan yang diinginkan

 M_1 = kosentrasi larutan stok

 M_2 = kosentrasi larutan hasil pengenceran

$$V_1 = 5 \text{ mL x } 400 \text{ ppm} = 4 \text{ mL}$$

500 ppm

Jadi, untuk membuat 5 mL sampel 400 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 4 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut hingga 5 mL.

Pembuatan Sampel 200 ppm

$$V_1 = 5 \text{ mL x } 200 \text{ ppm} = 2 \text{ mL}$$

500 ppm

Jadi, untuk membuat 5 mL sampel 200 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 2 mL.

> Pembuatan Sampel 100 ppm

$$V_1 = 5 \text{ mL x } 100 \text{ ppm} = 1 \text{ mL}$$

500 ppm

Jadi, untuk membuat 5 mL sampel 100 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 1 mL.

Pembuatan Sampel 50 ppm

$$V_1 = 5 \text{ mL x } 50 \text{ ppm} = 0.5 \text{ mL}$$

500 ppm

Jadi, untuk membuat 5 mL sampel 50 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 0,5 mL.

Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm

$$V_1 = 5 \text{ mL x } 25 \text{ ppm} = 0.25 \text{ mL}$$

500 ppm

Jadi, untuk membuat 5 mL sampel 25 ppm diperlukan larutan stok 500 ppm sebanyak 0,25 mL.

• Pembuatan Etanol 70%

Etanol murni 96%

V1.M1 = V2.M2

V1.96% = 10 ml .70%

V1 = 700 ml%

96%

V1 = 7,29166666 ml

Diambil etanol 96% sebanyak 7,29166666 ml
 dan ditambahkan akuades steril sampai 10 ml.



Lampiran 5. Data Optimasi Waktu

• Optimasi Waktu Ekstrak Etanol Kombinasi

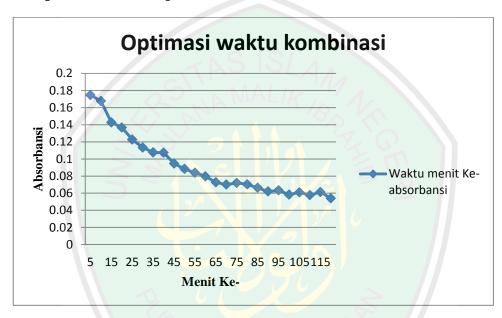
No	Waktu	A	bsorban	si	Jumlah	Rata-	Warna
	menit Ke-	515	515	515		rata	
_ 1	5	0.174	0.174	0.176	0.524	0.17467	ungu
2	10	0.16	0.18	0.163	0.503	0.16767	ungu pucat
3	15	0.141	0.142	0.145	0.428	0.14267	ungu pucat
4	20	0.135	0.137	0.138	0.41	0.13667	ungu pucat
5	25	0.122	0.122	0.124	0.368	0.12267	ungu pucat
6	30	0.113	0.112	0.115	0.34	0.11333	ungu pucat
7	35	0.107	0.107	0.109	0.323	0.10767	ungu pucat
8	40	0.106	0.107	0.109	0.322	0.10733	ungu pucat
9	45	0.094	0.095	0.095	0.284	0.09467	ungu pucat
10	50	0.088	0.088	0.089	0.265	0.08833	kecoklatan
11	55	0.086	0.082	0.084	0.252	0.084	kecoklatan
12	60	0.078	0.08	0.081	0.239	0.07967	kecoklatan
13	65	0.072	0.072	0.074	0.218	0.07267	kecoklatan
14	70	0.068	0.071	0.071	0.21	0.07	kecoklatan
15	75	0.071	0.071	0.074	0.216	0.072	kuning
16	80	0.069	0.071	0.071	0.211	0.07033	kuning
17	85	0.065	0.067	0.067	0.199	0.06633	kuning
18	90	0.062	0.062	0.062	0.186	0.062	Kuning
19	95	0.064	0.062	0.064	0.19	0.06333	Kuning
20	100	0.056	0.06	0.059	0.175	0.05833	Kuning
21	105	0.06	0.061	0.062	0.183	0.061	Kuning
22	110	0.057	0.057	0.059	0.173	0.05767	Kuning
23	115	0.059	0.063	0.062	0.184	0.06133	Kuning
24	120	0.053	0.055	0.054	0.162	0.054	kuning

• Optimasi Waktu Vitamin C

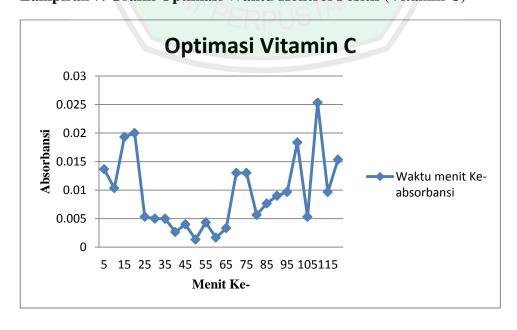
	Waktu menit Ke-	" 12	FRE	NIS I	m.		
No.		Absorbansi		Jumlah	Rata-rata	Warna	
		515	515	515			
1.	5	0.018	0.012	0.011	0.041	0.013667	Kuning
2.	10	0.011	0.01	0.01	0.031	0.010333	Kuning
3.	15	0.018	0.021	0.019	0.058	0.019333	Kuning
4.	20	0.02	0.019	0.021	0.06	0.02	Kuning
5.	25	0.005	0.006	0.005	0.016	0.005333	Kuning pucat
6.	30	0.001	0.01	0.004	0.015	0.005	Kuning pucat
7.	35	0.004	0.005	0.006	0.015	0.005	Kuning pucat
8.	40	0.003	0.002	0.003	0.008	0.002667	Kuning pucat
9.	45	0.005	0.003	0.004	0.012	0.004	Kuning pucat
10.	50	0.001	0.002	0.001	0.004	0.001333	Kuning pucat
11.	55	0.004	0.004	0.005	0.013	0.004333	Kuning pucat
12.	60	0.002	0.002	0.001	0.005	0.001667	Kuning pucat
13.	65	0.004	0.002	0.004	0.01	0.003333	Kuning pucat
14.	70	0.013	0.014	0.012	0.039	0.013	Putih
15.	75	0.013	0.013	0.013	0.039	0.013	Putih

							kekuningan
16.	80	0.006	0.005	0.006	0.017	0.005667	Putih
17.	85	0.01	0.006	0.007	0.023	0.007667	Putih
18.	90	0.01	0.01	0.007	0.027	0.009	Putih
19.	95	0.009	0.01	0.01	0.029	0.009667	Putih
20.	100	0.018	0.02	0.017	0.055	0.018333	Putih
21.	105	0.005	0.006	0.005	0.016	0.005333	Putih
22.	110	0.026	0.025	0.025	0.076	0.025333	Putih
23.	115	0.01	0.01	0.009	0.029	0.009667	Putih
24.	120	0.015	0.017	0.014	0.046	0.015333	Putih

Lampiran 6. Grafik Optimasi Waktu Ekstrak Etanol Kombinasi



Lampiran 7. Grafik Optimasi Waktu Kontrol Positif (Vitamin C)





> Data Pengukuran Kombinasi 1 Dengan UV-VIS

Absorbansi Ekstrak Racik Etanol P1

Tanggal Analisis : 08 Juli 2015

Advanced Reads Report

Report time 7/8/2015 1:54:27 PM

Method

Batch name D:\Layanan Analisa\Fitria-Biologi\Absorbansi

Ekstrak Racik Etanol P1 (08-07-2015).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. 1236) 514. 9

Analysis

Collection time 7/8/2015 1:54:27 PM

Sample F Mean SD %RSD Readings

Kontrol 0.3285

0.3279

0.3285 0.0005 0.16 0.3290

25 ppm 0.2284

				0. 2282
	0. 2281	0.0003	0. 15	0. 2277
Kontrol				0. 3309
				0. 3321
	0. 3314	0.0006	0. 18	0. 3313
50 ppm				0. 1971
				0. 1965
	0. 1964	0.0008	0. 41	0. 1955
Kontrol				0. 3143
				0. 3157
	0. 3150	0. 0007	0. 21	0. 3150
100 ppm				0. 1261
				0. 1266
	0. 1264	0. 0003	0. 22	0. 1266
Kontrol				0. 3176
				0. 3179
	0. 3178	0. 0002	0.06	0. 3180
200 ppm				0. 0415
				0. 0412
	0. 0415	0. 0002	0. 57	0. 0417
Kontrol				0. 3052
				0. 3053
	0. 3057	0.0008	0. 26	0. 3066
400 ppm				0. 0526
				0. 0525
	0.0526	0.0002	0.33	0. 0528

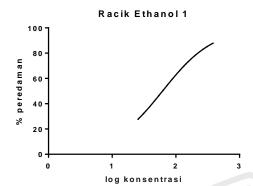
Results Flags Legend

R = Repeat reading

Data Hasil Pengukuran UV Vis Kombinasi 1

Global (shared) Comparison of Fits Can't calculate LogIC50 different for each data set Null hypothesis Alternative hypothesis LogIC50 same for all data sets P value 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= 100.0 Top LogIC50 1.791 HillSlope 1.085 IC50 61.75 Span = 100.0Std. Error LogIC50 0.06338 HillSlope 0.1980 95% Confidence Intervals LogIC50 1.589 to 1.992 HillSlope 0.4546 to 1.715 IC50 38.81 to 98.25 Goodness of Fit Degrees of Freedom R square 0.9435 Absolute Sum of Squares 140.3 6.838 Sy.x Constraints Bottom = 0.0**Bottom** Top Top = 100.0LogIC50 same for all data sets Best-fit values Bottom = 0.0= 100.0 Top LogIC50 1.791 1.791 HillSlope 1.085 IC50 61.75 61.75 Span = 100.0 Std. Error LogIC50 0.06338 0.06338 HillSlope 0.1980 95% Confidence Intervals LogIC50 1.589 to 1.992 1.589 to 1.992 HillSlope 0.4546 to 1.715 IC50 38.81 to 98.25 38.81 to 98.25 Goodness of Fit Degrees of Freedom R square 0.9435 0.9435 Absolute Sum of Squares 140.3 140.3 6.838 Sy.x Constraints Bottom = 0.0Bottom Top = 100.0Top LogIC50 LogIC50 is shared Number of points Analyzed 5

Kurva aktivitas antioksidan (%) kombinasi 1 versus konsentrasi (ppm)



> Data Pengukuran Kombinasi 2 Dengan UV-VIS

Absorbansi Ekstrak Racik 2 Etanol

Tanggal Analisa : 13 Agustus 2015

Advanced Reads Report

Report time 8/13/2015 11:03:07 AM

Method

Batch name D:\Layanan Analisa\Fitria-Biologi\Absorbansi

Ekstrak Racik 2 Etanol (13-08-2015).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 (0.1070) 514.9

Analysis

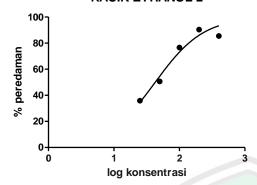
Collection time		8/13/2015 11:03:07 AM					
Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings		
Kontrol					0.1976		
					0.1980		
		0.1978	0.0002	0.10	0.1979		
5 ppm					0.1274		
					0.1265		
		0.1268	0.0005	0.41	0.1264		
ontrol					0.1962		
					0.1972		
		0.1967	0.0005	0.24	0.1967		
0 ppm					0.0971		
					0.0969		
		0.0972	0.0003	0.35	0.0976		
ontrol					0.1957		
					0.1966		
		0.1964	0.0006	0.30	0.1968		
00 ppm					0.0457		
					0.0460		
		0.0459	0.0002	0.43	0.0460		
ontrol					0.1948		
					0.1952		
		0.1948	0.0004	0.18	0.1945		
00 ppm					0.0186		
					0.0190		
		0.0188	0.0002	1.06	0.0188		
ontrol					0.1958		
					0.1965		
		0.1963	0.0005	0.25	0.1966		
00 ppm					0.0287		
					0.0285		
		0.0285	0.0002	0.58	0.0284		

➤ Data Hasil Pengukuran UV Vis Kombinasi 2

		Global (shared)
Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		LogIC50 different for each data set
Alternative hypothesis		LogIC50 same for all data sets
P value		209 .000 0a0 10. a data 00.0
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)		Logico dinerent for each data set
1 (DI 11, DI U)		
LogIC50 different for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0,0	
Тор	= 100,0	
LogIC50	1,631	
HillSlope	1,177	
IC50	42,76	
Span	= 100,0	
Std. Error		
LogIC50	0,05791	
HillSlope	0,2064	
95% Confidence Intervals	D' KMALIK MA	
LogIC50	1,447 to 1,815	
HillSlope	0,5205 to 1,834	
IC50	27,97 to 65,36	
Goodness of Fit	2.,5. 10 00,50	
Degrees of Freedom	3	
R square	0,9505	
Absolute Sum of Squares	109,7	
Sy.x	6,046	
Constraints	0,040	
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100,0	
ТОР	τορ = του,ο	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,0	
Тор	= 100,0	
LogIC50	1,631	1,631
HillSlope	1,177	
IC50	42,76	42,76
Span	= 100,0	
Std. Error		
LogIC50	0,05791	0,05791
HillSlope	0,2064	5,55151
95% Confidence Intervals	-,	
LogIC50	1,447 to 1,815	1,447 to 1,815
HillSlope	0,5205 to 1,834	,, 13 1,010
IC50	27,97 to 65,36	27,97 to 65,36
Goodness of Fit	27,07 10 00,00	27,07 to 00,00
Degrees of Freedom		3
R square	0,9505	0,9505
Absolute Sum of Squares	109,7	109,7
•	109,7	
Sy.x		6,046
Constraints	Dattam 00	
Bottom	Bottom = 0,0	
Top	Top = 100,0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points	-	
Analyzed	5	

Kurva aktivitas antioksidan (%) kombinasi 2 versus konsentrasi (ppm)

RACIK ETHANOL 2



> Data Pengukuran Kombinasi 3 Dengan UV-VIS

Absorbansi Ekstrak Racik 3 Etanol

Tanggal Analisa : 14 Agustus 2015

Advanced Reads Report

Report time 8/14/2015 1:11:49 PM

Method

Batch name D:\Layanan Analisa\Fitria-Biologi\Absorbansi

Ekstrak Racik 3 Etanol (14-08-2015).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

Jampie averaging

Comments:
Zero Report

Read Abs nm

Zero (0.1060) 514.9

Analysis

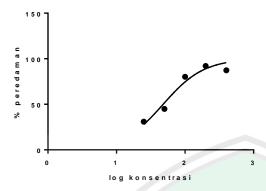
Collection time		8/1	4/2015 1:	11:49 P	M
Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.2446
					0.2450
		0.2448	0.0002	0.07	0.2448
25 ppm					0.1686
					0.1691
		0.1690	0.0004	0.25	0.1694
Kontrol					0.2430
					0.2432
		0.2430	0.0001	0.05	0.2429
50 ppm					0.1150
					0.1133
		0.1137	0.0012	1.02	0.1128
Kontrol					0.2430
					0.2426
		0.2427	0.0003	0.12	0.2424
100 ppm					0.0476
					0.0483
		0.0482	0.0005	1.13	0.0486
Kontrol					0.2436
					0.2438
		0.2438	0.0002	0.06	0.2440
200 ppm					0.0197
					0.0197
		0.0195	0.0004	2.25	0.0190
Kontrol					0.2434
					0.2435
		0.2434	0.0001	0.03	0.2434
400 ppm					0.0304
					0.0305
		0.0308	0.0007	2.20	0.0316

Data Hasil Pengukuran UV Vis Kombinasi 3

Global (shared) Comparison of Fits Can't calculate LogIC50 different for each data set Null hypothesis Alternative hypothesis LogIC50 same for all data sets P value 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 = 0,0Top = 100,0LogIC50 1,681 HillSlope 1,462 IC50 47,94 Span = 100,0Std. Error LogIC50 0,05774 HillSlope 0,2976 95% Confidence Intervals LogIC50 1,497 to 1,864 HillSlope 0,5145 to 2,409 IC50 31,40 to 73,18 Goodness of Fit Degrees of Freedom 3 R square 0,9456 Absolute Sum of Squares 162,8 Sy.x 7,367 Constraints Bottom = 0.0**Bottom** Top Top = 100,0LogIC50 same for all data sets Best-fit values **Bottom** = 0.0Top = 100,0LogIC50 1,681 1,681 HillSlope 1,462 IC50 47,94 47,94 Span = 100,0Std. Error LogIC50 0,05774 0,05774 HillSlope 0,2976 95% Confidence Intervals LogIC50 1,497 to 1,864 1,497 to 1,864 HillSlope 0,5145 to 2,409 IC50 31,40 to 73,18 31,40 to 73,18 Goodness of Fit Degrees of Freedom R square 0.9456 0,9456 Absolute Sum of Squares 162,8 162,8 Sy.x 7,367 Constraints Bottom Bottom = 0.0Top Top = 100,0LogIC50 LogIC50 is shared Number of points Analyzed 5

Kurva aktivitas antioksidan (%) kombinasi 1 versus konsentrasi (ppm)

RACIK ETHANOL 3



> Data Pengukuran Vitamin C Dengan UV-VIS

Absorbansi Vitamin C

Tanggal Analisa: 28 April 2015

Advanced Reads Report

Report time 4/28/2015 1:47:20 PM

Method

Batch name D:\Bu Bayin\Absorbansi Vitamin C (28-04-2015).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 (0.0913) 514.9

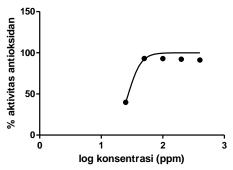
Analysis

Collection time		4/2	8/2015 1:	47:20 P	М
Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.3548
					0.3550
		0.3548	0.0002	0.06	0.3546
25 ppm					0.2186
					0.2100
		0.2134	0.0046	2.14	0.2117
Kontrol					0.3542
					0.3539
		0.3541	0.0002	0.05	0.3541
50 ppm					0.0249
					0.0244
		0.0247	0.0003	1.17	0.0248
Kontrol					0.3540
					0.3541
		0.3540	0.0001	0.02	0.3540
100 ppm					0.0251
					0.0251
		0.0251	0.0000	0.03	0.0251
Kontrol					0.3532
					0.3530
		0.3530	0.0001	0.03	0.3529
200 ppm					0.0274
					0.0276
		0.0276	0.0003	1.03	0.0280
Kontrol					0.3522
					0.3525
		0.3524	0.0002	0.06	0.3526
400 ppm					0.0304
					0.0317
		0.0310	0.0007	2.13	0.0310

> Data Hasil Pengukuran UV Vis Vitamin C

		Global (shared)
Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		LogIC50 different for each data set
Alternative hypothesis		LogIC50 same for all data sets
P value		g
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		LogIC50 different for each data set
F (DFn, DFd)		Logicoo amoroni for each data set
(5) (1, 5) d)		
LogIC50 different for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Тор	= 100.0	
LogIC50	1.441	
HillSlope	4.115	
IC50	27.59	
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.03344	
HillSlope	1.591	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	1.334 to 1.547	
HillSlope	-0.9462 to 9.176	
IC50	21.59 to 35.24	
Goodness of Fit	21.39 to 33.24	
	3	
Degrees of Freedom		
R square	0.9172	
Absolute Sum of Squares	182.5	
Sy.x	7.800	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Тор	Top = 100.0	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	1.441	1.441
HillSlope	4.115	1.441
IC50	27.59	27.59
		27.59
Span	= 100.0	
Std. Error	0.02244	0.00044
LogIC50	0.03344	0.03344
HillSlope	1.591	
95% Confidence Intervals	4.004 4.547	4.004 4.547
LogIC50	1.334 to 1.547	1.334 to 1.547
HillSlope	-0.9462 to 9.176	
IC50	21.59 to 35.24	21.59 to 35.24
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0.9172	0.9172
Absolute Sum of Squares	182.5	182.5
Sy.x		7.800
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Тор	Top = 100.0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
Analyzed	5	
	9	





Lampiran 9. Hasil Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan

Sampel/Konsentrasi	kontrol	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm
Kombinasi 1	+	+) (1+4/A	++	++++	++++
Kombinasi 2	+	++\\\AL	/ + +	+++	++++	++++
Kombinasi 3	+	+ ^ ^ ^	+++	++	++++	++++
Vitamin C	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++

Keterangan:

tanda +

: warna ungu

tanda ++ tanda +++

: warna ungu pudar : warna ungu kekuningan

tanda ++++

: warna kuning

tanda +++++

: putih : putih kuningan tanda +++++

Lampiran 10. Persen (%) Aktivitas Antioksidan dan IC₅₀

			Aktiv	itas antioksid	R				
No	Sampel	25ppm	50ppm	100ppm	200ppm	400ppm	squere	IC_{50}	kriteria
1	K1			.7 (1 0					
		30.56	40.74	59.87	86.95	82.79	0.9435	61.75	Kuat
2	K2	35.89484	50.58465	76.62933	90.34908	85.48141	0,9505	42,76	Sangat kuat
3	K3	30.96405	44.97942	80.14009	92.00164	87.34593	0,9456	47,94	Sangat kuat
4	Vit C	39.85344	93.02457	92.9096	92.1813	91.20318	0.9172	27.59	Sangat kuat

Lampiran 11. Data Uji Antifungi Cakram Disk

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
	14.68		14.34
	11.48	10.25	9.77
Kombinasi 1	14.4	8.34	13.42
	10.78	11.44	11.66
	11.63	11.04	11.55
Kombinasi 2	10.32	9.82	9.43
	9.16	10	11.04
	8.97	9.34	10.51
Kombinasi 3	10.17	9.28	9.91
	24.45	24.72	23.98
	23.96	23.22	27.64
nystatin	23.21	24.9	24.01
	7.08	6.61	6.6
	6.35	6.2	7.08
etanol	7.15	7.46	6.37

Lampiran 12. Data Hasil Perhitungan Diameter Zona Hambat

Sampel	Rata-rata	Luas cakram	Zona hambat
Kombinasi 1	12.20667	6.206667	5.44
Kombinasi 2	10.85222	4.852222	4.085556
Kombinasi 3	29.46	9.82	3.82
Nystatin	73.36333	24.45444	18.45444
Etanol 70%	6.766667	0.766667	0

Lampiran 13. Data Hasil Perhitungan Standart Deviasi (SD)

• Standart deviasi (SD) Kombinasi 1

Kombinasi 1	X (ulangan)	X^2	Jk	Jk/n-1	S
	14.68	215.5024	43.1438	35.1438	5.9282
	11.48	131.7904			
	14.4	207.36	TV A		
	13.18	173.7124	107 1		
	10.25	105.0625			
	8.34	69.5556			
	14.34	205.6356			
	9.77	95.4529			
	13.42	180.0964			
Jumlah	109.86	1384.168			
Jumlah X ²	12069.22				
Jumlah x/n	1341.024				

• Standart deviasi (SD) Kombinasi 2

Kombinasi 2	X (ulangan)	X^2	Jk	Jk/n-1	S
	10.78	116.2084	1065.438	1065.438	1065.438
	11.63	135.2569			
	10.32	106.5024			
	11.44	130.8736			
	11.04	121.8816			
	9.82	96.4324			
	11.66	135.9556			
	11.55	133.4025			

	9.43	88.9249		
Jumlah	97.67	1065.438		
Jumlah X ²	9539.429			
Jumlah x/n	1065.438			

• Standart deviasi (SD) Kombinasi 3

Kombinasi 3	X (ulangan)	X^2	Jk	Jk/n-1	S
	9.16	83.9056	3.8076	0.47595	0.6898
	8.97	80.4609			
	10.17	103.4289			
	10	100			
	9.34	87.2356			
	9.28	86.1184			
	11.04	121.8816			
	10.51	110.4601			
	9.91	98.2081			
Jumlah	88.38	871.6992			
Jumlah X ²	7811.024	T A D IC	PLZIn		
Jumlah x/n	867.8916		1/1/1		

• Standart deviasi (SD) Nystatin

Nystatin	X	X^2	Jk	Jk/n-1	S
	24.45	597.8025	14.15642	1.769553	1.3302
	23.96	574.0816		\sim	
	23.21	538.7041			
	24.72	611.0784			
	23.22	539.1684			
	24.9	620.01			
	23.98	575.0404			
	27.64	763.9696			
	24.01	576.4801	26/		
Jumlah	220.09	5396.335			
Jumlah X ²	48439.61				
Jumlah x/n	871.6992		101		

• Standart deviasi (SD) Etanol 70%

Etanol 70%	X (ulangan)	X^2	Jk	Jk/n-1	S
	7.08	50.1264	1.5284	0.19105	0.437
	6.35	40.3225			
	7.15	51.1225			
	6.61	43.6921			
	6.2	38.44			
	7.46	55.6516			
	6.6	43.56			
	7.08	50.1264			
	6.37	40.5769			
Jumlah	60.9	413.6184			
Jumlah X ²	3708.81				
Jumlah x/n	412.09				

Lampiran 14. Data Hasil Uji KHM Dan KBM

• Data Hasil Uji KHM

KONSENTRASI	Kombinasi 1			Kombinasi 2			Kombinasi 3		
Kontrol mikroba	123x10 ⁹	123x10 ⁹	123x10 ⁹	123x10 ⁹					
0.390%	78x10 ⁶	59 x10 ⁶	88 x10 ⁶	96 x10 ⁶	75 x10 ⁶	12,5x10 ⁶	82 x10 ⁶	81 x10 ⁶	79 x10 ⁶
0.780%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.56%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.13%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.25%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12.50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25.00%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50.00%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol Bahan	0	0	0 /	0	0	0	0	0	0

• Data Hasil Uji KBM

KONSENTRASI	Kombinasi 1			Kombinasi 2	RI	Kombinasi 3			
Kontrol mikroba				1/ 1/2					
0.390%	КНМ	КНМ	КНМ	кнм	кнм	КНМ	КНМ	КНМ	КНМ
0.780%	КВМ	КВМ	KBM	КВМ	КВМ	КВМ	КВМ	КВМ	KBM
1.56%) /	• , 💚	76					
3.13%		9			3				
6.25%		0,							
12.50%		7/	Drnr	LICTE	the.				
25.00%				00					
50.00%									
Kontrol Bahan									

LAMPIRAN 15. DOKUMENTASI PENELITIAN Lampiran 15.1 Alat Dan Bahan Preparasi Sampel



Gambar 1. Tumbuhan *Curcuma mangga* Val (temu mangga)



Gambar 2. Timbangan untuk penimbangan pasca panen



Gambar 3. Mesin pencuci tanaman



Gambar 4. Mesin perajang untuk memotong tanaman yang telah di cuci



Gambar 5. Penjemuran tanaman yang telah di Rajang



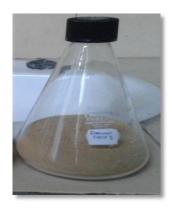
Gambar 6. Oven, untuk mengeringkan tanaman hingga kadar air 10%



Gambar 7. Mesin penggiling tanaman



Gambar 8. Serbuk Simplisia



Gambar 9. Ekstraksi kombinasi racik sendiri



Gambar 10. Maserasi dengan 400 ml etanol



Gambar 11. Pengaocokan sampel menggunakan *shaker inkubator*



Gambar 12. Pengambilan ekstrak menggunakan *corong buchner*



Gambar 13. Ekstrak hasil maserasi 400ml etanol



Gambar 14. Pemekatan ekstrak dengan mesin rotary evaporator



Gambar 15. Ekstrak etanol pekat kombinasi racik sendiri



Gambar 16. Proses Ekstraksi



Gambar 17. penimbangan gelas vial kosong



Gambar 18. penimbangan pada gelas vial yang telah diisi ekstrak pekat



Gambar 19. Penimbangan sampel untuk menentukan kadar air



Gambar 20. Desikator, sebangai tempat simlpisia setelah dioven



Gambar 21. Oven, untuk menghilangkan kadar air. Dioven selama 30 menit.

Lampiran 15.2 Alat Dan Bahan Uji Antioksidan



Gambar 22. Ditimbang untuk menghitung kadar air



Gambar 23. Penimbangan ekstrak sebelum uji antioksidan dan antifungi



Gambar 24. Pipetting larutan uji



Gambar 25. Vortex untuk menghomongenkan ekstrak



Gambar 26. Oven untuk inkubasi ekstrak uji.



Gambar 27. Spektrofotometer untuk menentukan waktu optimasi



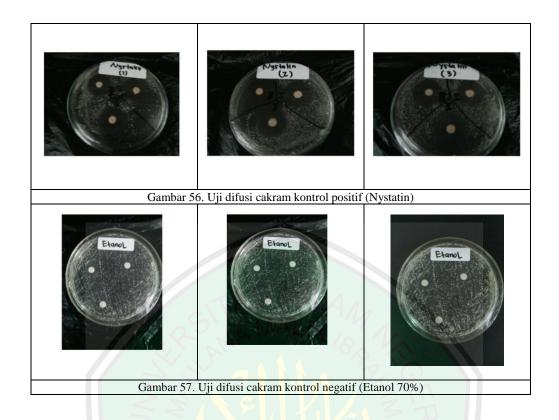
Gambar 28. Spektrovotometer UV-VIS

Lampiran 15.3 Alat Dan Bahan Uji Antifungi







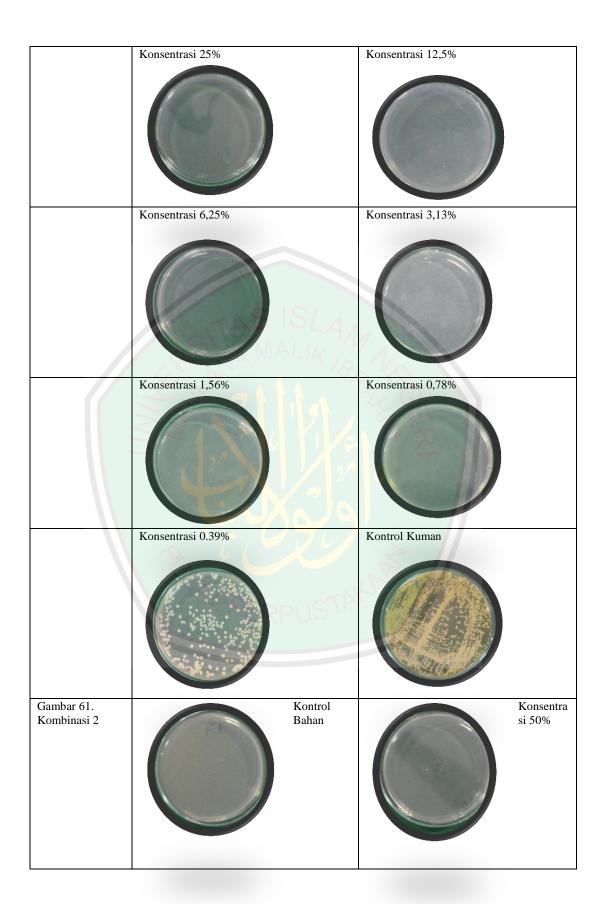


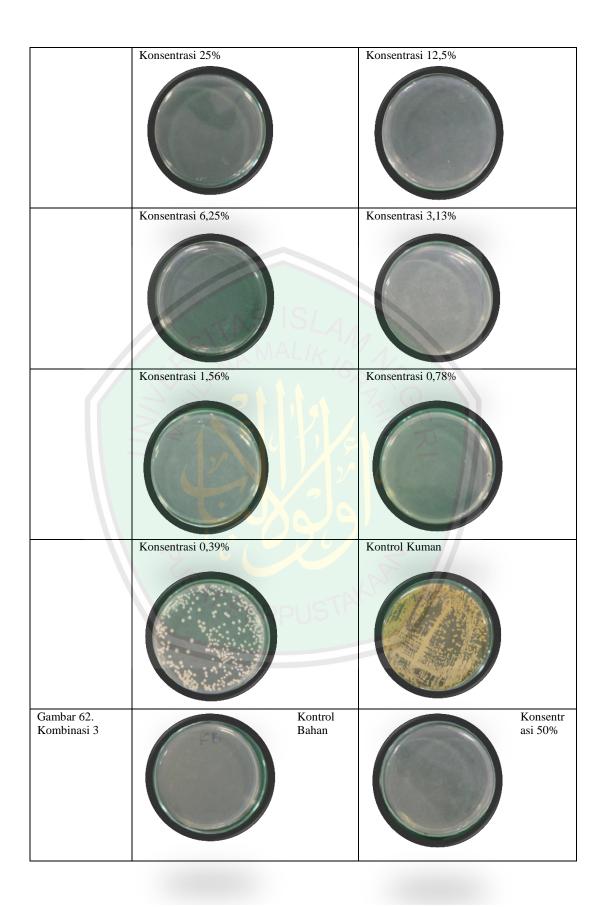
Lampiran 15.6 Gambar Ekstrak Untuk Uji KHM Dan KBM

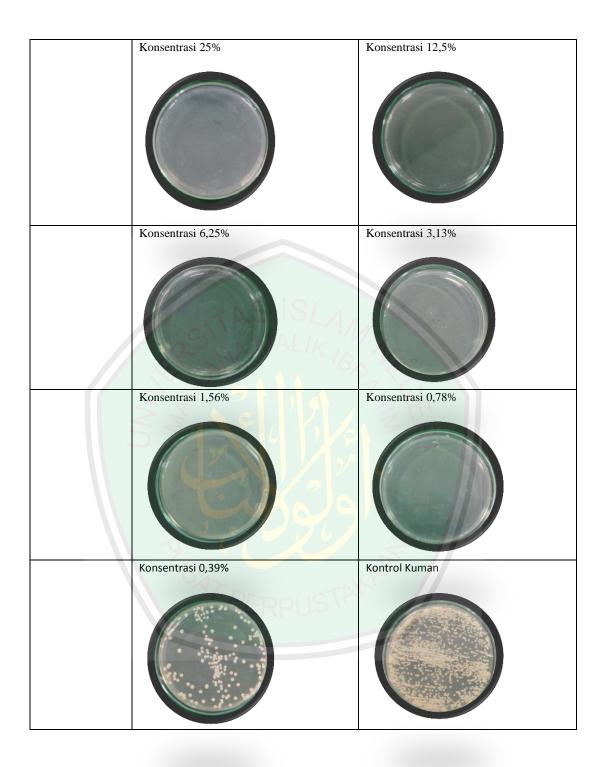


Gambar 59. Ekstrak Uji KHM kombinasi 1, 2, dan 3.











DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA

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

KOTA BATU

Nomor 074/115/101.8/2015

NIM

Sifat Biasa

Perihal Determinasi Tanaman Jeringau

Memenuhi permohonan saudara:

YUNI MA'RIFATUL AFIFAH Nama

11620016

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI Instansi

UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman jeringau

Kingdom Sub Kingdom

Plantae

Tracheobionta (berpembuluh) Spermatophyta

Super Divisi Divisi

Magnoliophyta

Sub divisi Kelas Bangsa Suku

Jenis

Angiospermae Monocotyledonae Arales

Araceae Marga Acorus

Acorus calamus L. Acorus terreestris Spreng.

Sinonim Nama Daerah

: Jeringau, jaringau (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).

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

Habitus: Herba, tahunan, tinggi ±75 cm. Batang: Basah, pendek, membentuk 2. Morfologi 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.

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

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/Jaringau, diakses tanggal 11 Desember 2005.
- Anonim. http://www.plantamor.com/Dlingu, diakses tanggal 12 Mei 2010.
- Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/Dlingu, diakses tanggal 12 Januari 2010.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. FLORA. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 23 Februari 2015

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin 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 : 074/114/101.8/2015

Sifat : Biasa

Perihal : Determinasi Tanaman Temu Mangga

Memenuhi permohonan saudara:

Nama : YUNI MA'RIFATUL AFIFAH

NIM : 11620016

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 ±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.

 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, 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, 23 Februari 2015 Kepala UPT Materia Medica Batu

1

Dr. Husin 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

: 074/113/101.8/2015

Sifat

Biasa

Perihal

: Determinasi Tanaman Bawang Putih

Memenuhi permohonan saudara:

Nama

: YUNI MA'RIFATUL AFIFAH

NIM

: 11620016

Instansi

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bawang putih

Kingdom

Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom Super Divisi Divisi

: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) Spermatophyta (Menghasilkan biji) Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Monocotyledonae

Bangsa Suku Marga

Kelas

Liliales Liliaceae : Allium

Jenis

: Allium sativum Linn.

Nama Umum

Garlic (Inggris), bawang putih (Indonesia), bawang (Jawa), bawang bodas (Sunda), bawang handak (Lampung), kasuna (Bali), lasuna pute (Bugis), bhabang pote

(Madura), bawa 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 enam, tangkai sari putih, kepala sari hijau, putik menancap 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.

- Dari umbi bawang putih per 100 gram mengandung: protein sebesar 4.5 g, lemak 4. Kandungan 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
 - Anonim. http://www.iptek.net.id/Bawang_Putih, diakses 21 Oktober 2010.
 - Anonim. http://www.plantamor.com/Bawang_Putih, diakses 12 Desember 2010.
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
 - Tjitrosoepomo, Gembong. 2005. Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan. UGM Press, Yogyakarta.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. FLORA. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

23 Februari 2015

la UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin RM, NIP 19611102 199103 1 003



KEMENTRIAN AGAMA RI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp. (0341) 551354 Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama

: Yuni Ma'rifatul Afifah

NIM

: 11620016

Fakultas/Jurusan

: Sains dan Teknologi/Biologi

Judul Skripsi

: POTENSI ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI EKSTRAK ETANOL KOMBINASI *Acorus calamus* (L.),

Curcuma mangga VAL., DAN Allium sativum (LINN.) SECARA IN

VITRO

Pembimbing I

: Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si

No.	Tanggal	Hal yang dikonsultasikan	Tanda Tangan
1.	03 Februari2015	Pengajuan Judul Skripsi	R
2.	09 Maret 2015	Konsultasi BAB I,II dan III	20
3	02 April 2015	Revisi BAB I, II dan III	3.Q
4.	14 Mei 2014	Revisi BAB I, II dan II	4.9
5.	25 Mei 2014	Revisi BAB I, II dan II	5. 2
6.	22 Oktober 2015	Konsultasi BAB IV dan V	6.2
7.	26 Oktober 2015	Revisi BAB I, II, III, IV dan V	7.9
8.	29 Oktober 2015	Acc BAB I, II, III, IV dan IV	8.

Malang, 30 Oktober 2015

Mengetahui, Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.

NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTRIAN AGAMA RI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp. (0341) 551354

Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama

: Yuni Ma'rifatul Afifah

NIM

: 11620016

Fakultas/Jurusan

: Sains dan Teknologi/Biologi

Judul Skripsi

: POTENSI ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI EKSTRAK ETANOL KOMBINASI Acorus calamus (L.), Curcuma mangga VAL., DAN Allium sativum (LINN.) SECARA IN VITRO

Pembimbing II

: Mujahidin Ahmad, M.Sc

No.	Tanggal	Hal yang dikonsultasikan	Tanda Tangan
1.	04 Mei 2015	Konsultasi BAB I, II dan III	1. the
2.	19 Oktober 2015	Revisi BAB I, II dan III	2.
3.	19 Oktober 2015	Konsultasi BAB IV dan V	3.
4.	29 Oktober 2015	ACC BAB I, II, III, IV dan V	4.

Malang, 30 Oktober 2015

Mengetahui, Ketua Jurusan Biologi

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