

**PENGARUH EKSTRAK RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.)
DALAM BEBERAPA PELARUT ORGANIK TERHADAP AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



Oleh:

MUHAMMAD NUR HASAN

NIM. 11620060/S-1

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

**PENGARUH EKSTRAK RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.)
DALAM BEBERAPA PELARUT ORGANIK TERHADAP AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



Oleh:

MUHAMMAD NUR HASAN

NIM. 11620060/S-1

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

**PENGARUH EKSTRAK RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.)
DALAM BEBERAPA PELARUT ORGANIK TERHADAP AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI 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:
MUHAMMAD NUR HASAN
NIM. 11620060/S-1**

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

2015

MOTTO

... dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran.
[QS. An-Nahl: 13]

“Hal-hal yang besar tidak dicapai secara tiba-tiba, melainkan melalui perpaduan atau rentetan hal-hal kecil yang dilakukan dengan baik dan sempurna.”
(*Vincent Van Gogh – Pelukis Kebangsaan Belanda*)



DEDICATION

This thesis is dedicated to:

∅ My Beloved Father (Matram)

∅ My Beloved Mother (Kholifah)

∅ My Beloved Brother (Ahmad Fuad Rosyidi, S.Pd) and Sisters (Khoiroh Ummu Rodhiyah, Amaliyah Syahidatun Ni'mah, dan Hafidzatun Nurul Karimah)

∅ My Supervisor (Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si and Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc), a million thanks for your nice suggestion.

∅ And all my friends at BIOLOGI'11, IBNU KHOLDUN-29, JDFI MSA, HTQ, LKP2M, FLP, IKAMALA, IKASAMANTA, LP2B, HMJ SEMUT MERAH, DOUBLE HELIX STUDY CLUB, MONERA, KOMUNITAS BOTANI, UIN MALIKI PRESS, AL-KHIDMAH, IPNU RANTING UIN MALANG, VOLUNTEER LPPM, PRO-FAUNA, MCW, GUSDURIAN, SAHABAT PRIVAT, TPA BARAKATUL QUR'AN and KBMB UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Thanks for your spirit and knowledges... !!!

KATA PENGANTAR



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

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

1. Ayah, Ibunda, saudara-saudara dan keluargaku tercinta yang telah mendidik dan selalu memberikan kasih sayang dengan sepenuh hati dan telah memberikan do'a restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah ﷻ selalu menaungi mereka dan kemudian kelak dikumpulkan di Surga-Nya.
2. Guru-guruku TK, SD, SMP, MA, para Kyai - Bu nyai dan ustadz-ustadzah di Pondok Pesantren yang pernah penulis jadikan tempat menimba ilmu. Perantara mereka lah penulis dapat mengenal baca tulis dan memahami agama dengan benar. Semoga Allah ﷻ selalu melimpahkan ramat dan hidayah-Nya kepada Beliau. Serta ilmunya dapat mendatangkan barakah-manfaat dalam hidup, sehingga menjadi amal jariyah di akhir hayat nanti.
3. Prof. Ir. Muhammad Nuh, DEA (Mendikbud RI 2009-2014) dan pejabat di Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Dikti) pada era kepemimpinan Presiden Susilo Bambang Yudhoyono yang telah memberikan kesempatan penulis mengenyam bangku kuliah melalui Program Beasiswa BIDIKMISI.
4. 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.

5. 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.
6. 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.
7. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dosen Pembimbing skripsi dan Elok Kamilah Hayati, M.Si beserta Anik Maunatin, M.P selaku konsultan yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan tekun dan sabar.
8. Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.
9. Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si dan Anik Maunatin, M.P selaku Dosen Penguji yang telah memberi masukan dan saran-saran yang membangun kepada penulis.
10. Kholifah Holil, M.Si selaku Dosen Wali yang telah membimbing penulis baik akademik maupun non akademik dan selalu memberikan dorongan motivasi agar penulis tetap progres dalam menempuh studi di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Prof. Iqbal Ahmad, M. Phil, Ph.D (Peneliti di Agricultural Microbiology of Aligarh Muslim University, India), Dr. Mohamad Rafi, S.Si, M.Si (Dosen Kimia Analitik di Departemen Kimia FMIPA-IPB, Doktor Material Engineering Gifu University Jepang), dan Dr. Sri Hartati (Doktor Ilmu Kimia - MIPA UI, Peneliti di Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong Tangsel) selaku dosen pembimbing luar yang sudi memberikan masukan ilmu yang representatif dengan topik peneliti.
12. dr. Nurlaili Susanti, S.Ked, Yanu Andhiarto, M.Farm, Fitria Nurul Mutmainah, Arsinta Sulistyorini, Lusi Agita Rahmawati, Yuni Ma'rifatul Afifah, dan Velayaty Labone Azzahra, S.Si selaku tim peneliti proyek Dosen Jurusan Biologi-Kimia-Farmasi Universitas Islam Negeri (UIN)

Maulana Malik Ibrahim Malang yang tidak henti-hentinya memberikan masukan, semangat dan saling melengkapi satu sama lain.

13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. Dr. Hj. Mufidah Ch., M.Ag selaku pimpinan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) UIN Maliki Malang beserta staff, DMI, dan kader-kader POSDAYA yang telah banyak memberikan ilmu, semangat baru serta pengalaman yang berharga kepada penulis selama proses studi.
18. Keluarga Besar Bu Maya Reztiqya, S.H beserta murid-murid TPA Barakatul Qur'an yang selalu memberikan motivasi serta do'anya kepada penulis selama di Malang.
19. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril, khususnya teman-teman di Keluarga Besar Mahasiswa Bidikmisi yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

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

Malang, Oktober 2015

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xviii
ABSTRAK	xix
ABSTRACT	xx
المُلخَص	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	11
1.3 Tujuan Penelitian	12
1.4 Hipotesis	12
1.5 Manfaat Penelitian	12
1.6 Batasan Masalah	13
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	14
2.1 Kajian Islam Tentang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	14
2.2 Tanaman Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	18
2.2.1 Deskripsi	18
2.2.2 Kandungan Kimia	21
2.2.3 Manfaat Rimpang Jeringau	22
2.3 Antioksidan	24
2.3.1 Pengertian Antioksidan	24
2.3.2 Mekanisme Antioksidan	27
2.3.3 Peranan Antioksidan Terhadap Kesehatan	30
2.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	33
2.5 Ekstraksi Golongan Senyawa Antioksidan dengan Variasi Pelarut	36
2.5.1 Prinsip Ekstraksi	36
2.5.2 Metode Ekstraksi dengan Maserasi	37
2.5.3 Jenis Pelarut	38
2.5.3.1 Etanol	39

2.5.3.2 Kloroform	41
2.5.3.3 Heksana	41
2.6 Tinjauan Umum Mikroba Uji	42
2.6.1 Taksonomi Jamur <i>Candida albicans</i>	42
2.6.2 Morfologi dan Identifikasi Jamur <i>Candida albicans</i>	42
2.6.3 Infeksi yang Disebabkan Jamur <i>C. albicans</i>	43
2.6.4 Pengobatan Kandidiasis	44
2.7 Antifungi	46
2.7.1 Pengertian Antifungi	46
2.7.2 Mekanisme Kerja Antifungi	46
2.8 Uji Antifungi	49
2.9 Hubungan Antara Antioksidan dengan Antimikroba	51
BAB III METODE PENELITIAN	53
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	53
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	53
3.3 Variabel Penelitian	54
3.3.1 Variabel bebas	54
3.3.2 Variabel terikat	54
3.3.3 Variabel terkontrol	54
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	55
3.4.1 Alat Penelitian	55
3.4.2 Bahan	55
3.5 Prosedur Penelitian	56
3.6 Pelaksanaan Penelitian	56
3.6.1 Preparasi Sampel	56
3.6.2 Penentuan Nilai Kadar Air	58
3.6.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi Tunggal	60
3.6.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	63
3.6.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	63
3.6.4.2 Penentuan Waktu Kestabilan (<i>Operating Time</i>)	63
3.6.4.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel	64
3.6.5 Uji Aktivitas Antifungi	66
3.6.5.1 Sterilisasi Alat	66
3.6.5.2 Pembuatan Media	66
3.6.5.3 Regenerasi (Peremajaan) Jamur <i>C. albicans</i>	67
3.6.5.4 Pembuatan Suspensi <i>C. albicans</i>	67
3.6.5.5 Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.) Terhadap <i>C. albicans</i>	67
3.6.5.6 Penghitungan Koloni Jamur <i>C. albicans</i>	71
3.7 Analisis Data	72
3.7.1 Analisis Data Uji Antioksidan	72
3.7.2 Analisis Data Uji Antifungi	73

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	74
4.1 Hasil Perhitungan Nilai Kadar Air Simplisia Jeringau	74
4.2 Hasil Nilai Rendeman dari Ekstrak Kasar Rimpang Jeringau	75
4.3 Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau Terhadap Aktivitas Antioksidan ...	78
4.3.1 Hasil % Aktivitas Antioksidan	79
4.3.2 Hasil Nilai <i>Inhibition Concentration</i> (IC ₅₀)	84
4.4 Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau Terhadap Aktivitas Antifungi	91
4.4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat	91
4.4.2 Hasil Pengamatan dari Penentuan KHM-KBM	94
BAB V PENUTUP	105
5.1 Kesimpulan	105
5.2 Saran	106
DAFTAR PUSTAKA	107
LAMPIRAN	118



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Jeringau	19
Gambar 2.2 Struktur α -Asaron dan β -Asaron	21
Gambar 2.3 Reaksi Penghambatan Antioksidan Antar Radikal Antioksidan .	28
Gambar 2.4 Antioksidan Sebagai Prooksidan pada Konsentrasi Tinggi	29
Gambar 2.5 Reaksi DPPH dengan Antioksidan	34
Gambar 2.6 Jamur <i>Candida albicans</i>	43
Gambar 4.1 Grafik Aktivitas Antioksidan (%) Sampel Uji	81
Gambar 4.2 Antioksidan Sebagai Prooksidan pada Konsentrasi Tinggi	83
Gambar 4.3 Reaksi DPPH dengan Salah Satu Senyawa Antioksidan	88
Gambar 4.4 Mekanisme Vitamin C yang Direaksikan dengan DPPH	90
Gambar 4.5 Metode Uji Dilusi Cair (Pengenceran)	94



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Minyak Atsiri Jeringau	22
Tabel 2.2 Konstanta Dielektrikum dan Tingkat Kelarutan Beberapa Pelarut dalam Air	36
Tabel 2.3 Sifat-Sifat Etanol	40
Tabel 4.1 Kadar Air Sampel Kering Rimpang Jeringau	74
Tabel 4.2 Warna, Tekstur dan Nilai Rendemen Ekstrak Kasar dari Masing-Masing Pelarut	76
Tabel 4.3 Data % Aktivitas Antioksidan Tiap Ekstrak dan Perbandingan Vitamin C Setiap Konsentrasi	81
Tabel 4.4 Hasil Nilai Koefisien Determinasi (R^2) dan IC_{50} Ekstrak Serta Perbandingannya	84
Tabel 4.5 Rerata Diameter Daya Hambat Fungi Uji pada Tiap Perlakuan	92
Tabel 4.6 Kategori Penghambatan Antifungi Berdasarkan Diameter Zona Hambat	93
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Secara Visual	95
Tabel 4.8 Hasil Penghitungan Koloni Jamur yang Tumbuh pada SDA	97

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir	118
Lampiran 2. Perhitungan	129
Lampiran 3. Hasil Penelitian Antioksidan	136
Lampiran 4. Hasil Penelitian Antifungi	150
Lampiran 5. Gambar (Dokumentasi) Penelitian	153
Lampiran 6. Lembar Bukti Konsultasi	164
Lampiran 7. Surat Keterangan Determinasi Tanaman	166



DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Simbol	Keterangan
λ	panjang gelombang (nm)
ppm	“ <i>Part Per Million</i> ” jika di bahasa Indonesiakan akan menjadi “Bagian per Sejuta Bagian” adalah satuan konsentrasi yang sering dipergunakan dalam analisis kimia. 1 ppm setara dengan 1 mg/liter
AH	Antioksidan
SOD	Enzim superoksida dismutase; Antioksidan alami disintesis oleh tubuh (antioksidan endogen) sebagai sistem pertahanan terhadap radikal bebas
A [•]	Radikal antioksidan
BHA	Butil Hidroksi Anisol
BHT	Butil Hidroksi Toluen
PG	Propil Galat
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DPPH ⁻ H	2,2-difenil-1-pikrilhidrazin
IC ₅₀	<i>Inhibition Concentration</i> (konsentrasi yang dibutuhkan untuk menurunkan sebesar 50 % dari konsentrasi substrat (radikal DPPH) awal
O ₂	Oksigen
O ₂ ^{•-}	Radikal superoksida
OH	Hidroksil
OH [•]	Radikal hidroksil
R	Gugus alkil
R [•]	Radikal lipida
RH	Lipida
ROOH	Hidroperoksida
RO [•]	Radikal alkoksil
ROO [•]	Radikal peroksil
t.l.	Titik lebur
t.d.	Titik didih
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum/ <i>Minimum Inhibitory Concentration (MIC)</i>
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum/ <i>Minimum Fungicidal Concentration (MFC)</i>
Nystatin	Obat antifungi; dapat membunuh jamur <i>Candida albicans</i> (penyebab pnyakit kandidiasis/keputihan pada organ reproduksi wanita)

ABSTRAK

Hasan, Muhammad N. 2015. **Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi Secara *In Vitro***. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Kata kunci: *infertilitas, Candida albicans, rimpang jeringau, pelarut organik, fitokimia, antioksidan, antifungi, in vitro.*

Diperkirakan sebanyak 75% wanita di Indonesia pernah mengalami keputihan. Keputihan paling sering diakibatkan oleh infeksi jamur *Candida albicans* dan dapat menyebabkan komplikasi yang serius contohnya infertilitas. Salah satu bahan ramuan yang terkenal dapat menyembuhkan masalah-masalah infertilitas adalah rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.). Penelitian ini menjadi langkah awal untuk proses standarisasi dan saintifikasi rimpang jeringau sebagai salah satu bahan dasar obat tradisional etnis Madura, yaitu jamu “Subur Kandungan”. Sehingga dilakukan penelitian lebih mendalam sebagai antioksidan dan antifungi dengan beberapa pelarut organik berdasarkan tingkat kepolaran.

Penelitian ini menggunakan penelitian *experimental design*. Sampel diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol p.a, kloroform p.a, dan n-heksana p.a. Uji kadar antioksidan menggunakan variasi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm. Kemudian dihitung persen aktivitas antioksidannya. Selanjutnya diuji aktivitas antifungi secara *in vitro* terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; dan 0%. Pada masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali.

Hasil nilai IC₅₀ uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar rimpang jeringau dengan metode DPPH dari tertinggi ke terendah berturut-turut (etanol; 137,7 mg/L tergolong sedang), (kloroform; 315,8 mg/L tergolong lemah), dan (n-heksana; 1011 mg/L tergolong sangat lemah/tidak aktif). Sedangkan zona hambat dengan diameter dari ukuran terbesar sampai terkecil secara berurutan adalah kontrol positif (nystatin) 17,68 mm (kuat), jeringau etanol 3,72 mm (sedang), jeringau n-heksana 3,32 mm (sedang), jeringau kloroform 2,2 mm (lemah) dan kontrol negatif (pelarut etanol 70%) 0,77 mm (lemah). Adapun nilai KHM terdapat pada masing-masing ekstrak rimpang jeringau konsentrasi 0,39%. Dan nilai KBM ekstrak rimpang jeringau masing-masing perlakuan didapatkan pada konsentrasi 0,78%.

ABSTRACT

Hasan, Muhammad Nur. 2015. **The Effect of Jeringau Rhizomes (*Acorus calamus L.*) Extract Rhizomes in Some Organic Solvents on Antioxidant and Antifungal Activity *In Vitro***. Thesis. Biology Department. Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Advisor: Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si and Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Keywords: infertility, *Candida albicans*, Jeringau rhizomes, organic solvents, phytochemicals, antioxidant, antifungal, in vitro.

It is estimated that around 75% of women in Indonesia have experienced vaginal discharge. Vaginal discharge is most frequently caused by the infection of *Candida albicans* and can cause serious complications such as infertility. One well-known concoction that can cure infertility problems are Jeringau rhizomes (*Acorus Calamus L.*). This research is the first step to the process of standardization and scientification of Jeringau rhizome as a basic ingredient of traditional medicine used by Madurese ethnic, namely "*Subur Kandungan*". Hence, the more in-depth research is also conducted using numerous organic solvents in extraction process.

This research is an experimental design research. Sample was extracted using maceration method with solvents of ethanol p.a, chloroform p.a, dan n-hexane p.a. Examine the antioxidant levels using a variation of the concentration—25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm and 400 ppm. Then, the researcher calculated the percentage of antioxidant activity. The antifungal activity in vitro against *Candida albicans* fungal growth with a concentration of 100%; 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.13%; 1.56%; 0.78%; 0.39%; and 0% is examined further. Each treatment is conducted three times.

The IC₅₀ values test in the experiment related to the antioxidant activity of Jeringau rhizomes crude extract using DPPH from highest to lowest are as follows: (ethanol; 137.7 mg/L was moderate), (chloroform; 315.8 mg/L relatively weak), and (n-hexane; 1011 mg/L as very weak/inactive). Whereas the inhibition zones with a diameter the size from the largest to the smallest are a positive control (nystatin)—17.68 mm (strong)—, Jeringau ethanol—3.72 mm (medium)—, Jeringau n-hexane—3.32 mm (medium)—, Jeringau chloroform—2.2 mm (weak)—, and negative controls (solvent ethanol 70%)—0.77 mm (weak)—. Therefore, it can be concluded that the MIC values contained in each extract of Jeringau rhizomes is 0.39% and the MFC values of Jeringau rhizomes extract in each treatment is obtained at the concentration of 0.78%.

الملخص

حسن، محمد نور. 2015. تأثير استخراج جذمور *Jeringau* (*Acorus calamus L.*) في المذيبيات العضوية ضد بعض المواد المضادة للأكسدة ومضادات الفطريات في المختبر. البحث العلمي. قسم البيولوجيا. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشريف: الدكتور. البيطري. الحاج. بينة المحترمة الماجستير ومجاهدين أحمد الماجستير.

الكلمة الرئيسية: العقم، المبيضات البيض، جذور *Jeringau*، المذيبيات العضوية، والمواد الكيميائية النباتية المضادة للأكسدة، مضاد للفطريات، في المختبر.

فمن المقدر أن ما يصل إلى 75٪ من النساء في إندونيسيا شهدت الإفرازات المهبلية. يبيضاء تسبب في معظم الأحيان عن المبيضات البيض عدوى فطرية، ويمكن أن تسبب مضاعفات خطيرة مثل العقم. عنصر واحد معروفة يمكن أن يعالج مشاكل العقم هو جذمور *Jeringau* (*Acorus calamus L.*). هذا البحث هو الخطوة الأولى في عملية التوحيد القياسي و *scientification* جذمور *Jeringau* باعتبارها المكون الأساسية من الطب التقليدي العرقية المادرية، وهي العشبية "الخصبة الولادة". وبالتالي فإن البحث أكثر تعمقا كمضاد للأكسدة ومضاد للفطريات مع بعض المذيبيات العضوية استنادا إلى مستوى الاستقطاب. يستخدم الباحث في هذا البحث البحوث التجريبية بتصميم. تم استخراج العينات بطريقة النقع باستخدام الايثانول p.a، الكلوروفورم p.a، ون الهكسان p.a. الفحص المضادة للأكسدة باستخدام تركيزات مختلفة من 25 صفحة في الدقيقة، 50 جزء في المليون، 100 جزء في المليون، 200 جزء في المليون و 400 جزء في المليون. ثم تحسب في المئة النشاط المضادة للأكسدة. الاختبار التالي في نشاط مضاد المختبر ضد نمو الفطريات المبيضات البيض مع التركيز 0.100٪؛ 0.50٪؛ 0.25٪؛ 0.12.5٪؛ 0.6.25٪؛ 0.3.13٪؛ 0.1.56٪؛ 0.0.78٪؛ 0.0.39٪؛ و0٪. في كل معاملة أُنجز ثلاث مرات اعادة.

نتائج القيمة IC_{50} اختبار النشاط المضادة للأكسدة من استخراج النفط الخام من جذور *Jeringau* ب $DPPH$ من الأعلى إلى الأدنى على التوالي (إيثانول؛ 137.7 ملغم/لتر تصنف على أنها معتدلة)، (كلوروفورم، 315.8 ملغم/لتر ضعيفا نسبيا)، و (ن الهكسان، 1011 ملغم/ليتر تصنف على أنها ضعيفة جدا/الخاملة). بينما منطقة مثبتة بقطر على حجم أكبر إلى أصغر في صف واحد هو السيطرة الإيجابية (نيستاتين) 17.68 ملغم (قوية)، *Jeringau* الإيثانول 3.72 ملغم (معتدل)، *Jeringau* ن الهكسان 3.32 ملغم (معتدل)، *Jeringau* الكلوروفورم 2.2 ملغم (ضعيفة) وضوابط السلبية (مذيب الإيثانول 70٪) 0.77 ملغم (ضعيفة). إن القيمة MIC الواردة في كل جذمور استخراج تركيز *Jeringau* 0.39٪. تم الحصول على MFC والقيمة استخراج جذمور *Jeringau* كل معاملة بتركيز 0.78٪.

ABSTRAK

Hasan, Muhammad N. 2015. **Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi Secara *In Vitro***. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Kata kunci: *infertilitas, Candida albicans, rimpang jeringau, pelarut organik, fitokimia, antioksidan, antifungi, in vitro.*

Diperkirakan sebanyak 75% wanita di Indonesia pernah mengalami keputihan. Keputihan paling sering diakibatkan oleh infeksi jamur *Candida albicans* dan dapat menyebabkan komplikasi yang serius contohnya infertilitas. Salah satu bahan ramuan yang terkenal dapat menyembuhkan masalah-masalah infertilitas adalah rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.). Penelitian ini menjadi langkah awal untuk proses standarisasi dan saintifikasi rimpang jeringau sebagai salah satu bahan dasar obat tradisional etnis Madura, yaitu jamu “Subur Kandungan”. Sehingga dilakukan penelitian lebih mendalam sebagai antioksidan dan antifungi dengan beberapa pelarut organik berdasarkan tingkat kepolaran.

Penelitian ini menggunakan penelitian *experimental design*. Sampel diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol p.a, kloroform p.a, dan n-heksana p.a. Uji kadar antioksidan menggunakan variasi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm. Kemudian dihitung persen aktivitas antioksidannya. Selanjutnya diuji aktivitas antifungi secara *in vitro* terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; dan 0%. Pada masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali.

Hasil nilai IC_{50} uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar rimpang jeringau dengan metode DPPH dari tertinggi ke terendah berturut-turut (etanol; 137,7 mg/L tergolong sedang), (kloroform; 315,8 mg/L tergolong lemah), dan (n-heksana; 1011 mg/L tergolong sangat lemah/tidak aktif). Sedangkan zona hambat dengan diameter dari ukuran terbesar sampai terkecil secara berurutan adalah kontrol positif (nystatin) 17,68 mm (kuat), jeringau etanol 3,72 mm (sedang), jeringau n-heksana 3,32 mm (sedang), jeringau kloroform 2,2 mm (lemah) dan kontrol negatif (pelarut etanol 70%) 0,77 mm (lemah). Adapun nilai KHM terdapat pada masing-masing ekstrak rimpang jeringau konsentrasi 0,39%. Dan nilai KBM ekstrak rimpang jeringau masing-masing perlakuan didapatkan pada konsentrasi 0,78%.

ABSTRACT

Hasan, Muhammad Nur. 2015. **The Effect of Jeringau Rhizomes (*Acorus calamus L.*) Extract Rhizomes in Some Organic Solvents on Antioxidant and Antifungal Activity *In Vitro***. Thesis. Biology Department. Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Advisor: Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si and Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Keywords: infertility, *Candida albicans*, Jeringau rhizomes, organic solvents, phytochemicals, antioxidant, antifungal, in vitro.

It is estimated that around 75% of women in Indonesia have experienced vaginal discharge. Vaginal discharge is most frequently caused by the infection of *Candida albicans* and can cause serious complications such as infertility. One well-known concoction that can cure infertility problems are Jeringau rhizomes (*Acorus Calamus L.*). This research is the first step to the process of standardization and scientification of Jeringau rhizome as a basic ingredient of traditional medicine used by Madurese ethnic, namely "*Subur Kandungan*". Hence, the more in-depth research is also conducted using numerous organic solvents in extraction process.

This research is an experimental design research. Sample was extracted using maceration method with solvents of ethanol p.a, chloroform p.a, dan n-hexane p.a. Examine the antioxidant levels using a variation of the concentration—25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm and 400 ppm. Then, the researcher calculated the percentage of antioxidant activity. The antifungal activity in vitro against *Candida albicans* fungal growth with a concentration of 100%; 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.13%; 1.56%; 0.78%; 0.39%; and 0% is examined further. Each treatment is conducted three times.

The IC₅₀ values test in the experiment related to the antioxidant activity of Jeringau rhizomes crude extract using DPPH from highest to lowest are as follows: (ethanol; 137.7 mg/L was moderate), (chloroform; 315.8 mg/L relatively weak), and (n-hexane; 1011 mg/L as very weak/inactive). Whereas the inhibition zones with a diameter the size from the largest to the smallest are a positive control (nystatin)—17.68 mm (strong)—, Jeringau ethanol—3.72 mm (medium)—, Jeringau n-hexane—3.32 mm (medium)—, Jeringau chloroform—2.2 mm (weak)—, and negative controls (solvent ethanol 70%)—0.77 mm (weak)—. Therefore, it can be concluded that the MIC values contained in each extract of Jeringau rhizomes is 0.39% and the MFC values of Jeringau rhizomes extract in each treatment is obtained at the concentration of 0.78%.

الملخص

حسن، محمد نور. 2015. تأثير استخراج جذمور *Jeringau* (*Acorus calamus L.*) في المذيبيات العضوية ضد بعض المواد المضادة للأكسدة ومضادات الفطريات في المختبر. البحث العلمي. قسم البيولوجيا. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشريف: الدكتور. البيطري. الحاج. بينة المحترمة الماجستير ومجاهدين أحمد الماجستير.

الكلمة الرئيسية: العقم، المبيضات البيض، جذور *Jeringau*، المذيبيات العضوية، والمواد الكيميائية النباتية المضادة للأكسدة، مضاد للفطريات، في المختبر.

فمن المقدر أن ما يصل إلى 75٪ من النساء في إندونيسيا شهدت الإفرازات المهبلية. يبيضاء تسبب في معظم الأحيان عن المبيضات البيض عدوى فطرية، ويمكن أن تسبب مضاعفات خطيرة مثل العقم. عنصر واحد معروفة يمكن أن يعالج مشاكل العقم هو جذمور *Jeringau* (*Acorus calamus L.*). هذا البحث هو الخطوة الأولى في عملية التوحيد القياسي و *scientification* جذمور *Jeringau* باعتبارها المكون الأساسية من الطب التقليدي العرقية المادرية، وهي العشبية "الخصبة الولادة". وبالتالي فإن البحث أكثر تعمقا كمضاد للأكسدة ومضاد للفطريات مع بعض المذيبيات العضوية استنادا إلى مستوى الاستقطاب. يستخدم الباحث في هذا البحث البحوث التجريبية بتصميم. تم استخراج العينات بطريقة النقع باستخدام الايثانول p.a، الكلوروفورم p.a، ون الهكسان p.a. الفحص المضادة للأكسدة باستخدام تركيزات مختلفة من 25 صفحة في الدقيقة، 50 جزء في المليون، 100 جزء في المليون، 200 جزء في المليون و 400 جزء في المليون. ثم تحسب في المئة النشاط المضادة للأكسدة. الاختبار التالي في نشاط مضاد المختبر ضد نمو الفطريات المبيضات البيض مع التركيز 0.100٪؛ 0.50٪؛ 0.25٪؛ 0.12.5٪؛ 0.6.25٪؛ 0.3.13٪؛ 0.1.56٪؛ 0.0.78٪؛ 0.0.39٪؛ و0.٪ في كل معاملة أُنجز ثلاث مرات اعادةً.

نتائج القيمة IC_{50} اختبار النشاط المضادة للأكسدة من استخراج النفط الخام من جذور *Jeringau* ب $DPPH$ من الأعلى إلى الأدنى على التوالي (إيثانول؛ 137.7 ملغم/لتر تصنف على أنها معتدلة)، (كلوروفورم، 315.8 ملغم/لتر ضعيفا نسبيا)، و (ن الهكسان، 1011 ملغم/ليتر تصنف على أنها ضعيفة جدا/الخاملة). بينما منطقة مثبتة بقطر على حجم أكبر إلى أصغر في صف واحد هو السيطرة الإيجابية (نيستاتين) 17.68 ملغم (قوية)، *Jeringau* الإيثانول 3.72 ملغم (معتدل)، *Jeringau* ن الهكسان 3.32 ملغم (معتدل)، *Jeringau* الكلوروفورم 2.2 ملغم (ضعيفة) وضوابط السلبية (مذيب الإيثانول 0.70٪) 0.77 ملغم (ضعيفة). إن القيمة MIC الواردة في كل جذمور استخراج تركيز *Jeringau* 0.39٪. تم الحصول على MFC والقيمة استخراج جذمور *Jeringau* كل معاملة بتركيز 0.78٪.

BAB I

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 (Depkes RI, 2006). Sedangkan Roupa *et al.*, (2009) mendefinisikan lebih detail bahwa infertilitas adalah ketidakmampuan seorang perempuan untuk hamil setelah berusaha hamil selama minimal 6 bulan atau satu tahun, untuk wanita berumur di atas 35 tahun, tanpa menggunakan sarana kontrol kelahiran, sementara memiliki hubungan seksual yang normal.

Angka infertilitas di Indonesia yang dikemukakan oleh Yusnita (2012) berkisar (12-15%). Banyaknya pasangan infertilitas di Indonesia dapat diperhitungkan dari banyaknya wanita yang pernah kawin dan tidak mempunyai anak yang masih hidup. Menurut sensus penduduk tahun 2010 oleh Badan Pusat Statistik (BPS) terdapat 12% baik di desa maupun di kota atau sekitar 3 juta pasangan infertil tersebar di seluruh Indonesia, dari jumlah tersebut terdapat perempuan infertil 15% pada usia 30-34, 30% pada usia 35-39, dan 64% pada usia 40-44 tahun. Secara global dapat disimpulkan penyebab terjadinya infertilitas diakibatkan dari faktor perempuan sebanyak 30% yang mempunyai masalah pada vagina, serviks, uterus, kelainan pada tuba, ovarium dan pada peritoneum, faktor dari laki-laki 30%, gangguan dari keduanya 30% dan yang tidak di ketahui sekitar 10%.

Infertilitas tampaknya menjadi masalah kesehatan multidimensi yang terjadi tidak hanya karena masalah kesehatan yang berkaitan dengan organ-organ reproduksi seperti; tuba fallopi, ovarium, dan endometrium tetapi juga mungkin akibat dari pilihan gaya hidup modern seperti usia rata-rata yang lebih tinggi ketika menikah, stress, hukum yang tidak kondusif dan efek psikologi lain (Roupa *et al.*, 2009). Faktor lain yang dapat menyebabkan seorang wanita maupun pria mengalami infertilitas ialah gaya hidup yang tidak terkontrol yang diterapkan sejak usia remaja yang memicu radikal bebas di antaranya kebiasaan merokok, keadaan lingkungan yang buruk (polusi udara dan air). Menurut Aprilia (2015) radikal bebas dapat menyebabkan infertilitas baik pada laki-laki maupun wanita. Khususnya wanita yang mengalami infertilitas salah satunya dapat disebabkan oleh penyakit keputihan.

Agustini (2013) menyebutkan bahwa keputihan (*leukorrhea, vaginal discharge*) merupakan masalah kesehatan reproduksi wanita yang sering dialami. Diperkirakan sebanyak 75% wanita di Indonesia pernah mengalami keputihan minimal satu kali dalam hidupnya. Keputihan yang tidak normal paling sering diakibatkan oleh infeksi jamur *Candida albicans*, bakteri atau parasit *Trichomonas vaginalis*. Gejala keputihan bervariasi dan tergantung dari penyebab dan jika dibiarkan berlanjut, keputihan dapat menyebabkan komplikasi yang serius seperti infertilitas, penyakit radang panggul, kelahiran prematur dan berat badan lahir rendah. Umumnya terapi obat-obatan diberikan sesuai dengan organisme yang menyebabkan keputihan. Selain menggunakan obat-obatan,

dianjurkan untuk selalu menjaga kebersihan daerah intim sebagai tindakan pencegahan sekaligus mencegah berulangnya keputihan.

Pengobatan infertilitas dengan metode diagnosis yang ada biasanya dilakukan pengobatan dengan cara operasi, terapi obat-obatan, *In vitro fertilization* (IVF) atau teknologi reproduksi bantuan (*Assisted Reproduction Technology*). Hal ini tidak selalu menghasilkan kehamilan dan kelahiran bayi dalam keadaan hidup. Apalagi IVF mahal, baik secara emosional dan finansial (Delosantos, 2012). Di negara-negara maju yang secara luas telah menggunakan obat-obatan modern, akhir-akhir ini terdapat kecenderungan masyarakat kembali ke alam (*back to nature*) untuk menggunakan obat-obat tradisional dan obat-obatan dari tumbuhan (herbal) bagi kesehatan (Dewoto, 2007). Fakta ini juga dikuatkan oleh WHO yang melaporkan bahwa 80% orang di dunia saat ini bergantung pada tanaman obat untuk pemeliharaan kesehatannya (Wulandari, 2001).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki potensi keanekaragaman hayati cukup besar di dunia. Keanekaragaman hayati Indonesia ini menempati urutan kedua terkaya di dunia setelah Brazil. Hutan hujan tropika Indonesia diperkirakan menyimpan lebih dari 30.000 jenis tumbuhan (Widaryanto, 2008). Menurut Wijayakusuma (1993) sekitar 30.000 sampai 40.000 jenis tumbuhan obat baik di darat maupun di laut yang tersebar dari Aceh sampai Papua banyak berkhasiat sebagai obat.

Sinambela (2000) menjelaskan bahwa terdapat lebih dari 7.000 spesies tanaman yang telah dikenal dan dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Namun,

masih sekitar 250 jenis tumbuhan saja yang digunakan sebagai bahan baku obat oleh industri obat tradisional dan modern. Indonesia termasuk salah satu negara yang banyak menggunakan obat-obat alamiah (herbal), baik dalam bentuk tradisional (jamu) maupun dalam bentuk modern (pil, kapsul, puyer, dan lain-lain). Bakar (2007) menyebutkan bahwa sebanyak 940 spesies atau sekitar 26% telah digunakan untuk berbagai keperluan industri obat dan jamu, hanya beberapa spesies yang telah dibudidayakan secara intensif dan sisanya sekitar 74% masih tumbuh liar. Dengan demikian, Indonesia merupakan sumber produksi plasma nutfah tumbuhan berkhasiat obat yang potensinya perlu digali secara sungguh-sungguh untuk kesejahteraan masyarakat.

Usaha pengembangan terhadap bahan alam sebagai obat tradisional dapat dikembangkan melalui kebiasaan masyarakat dalam pemanfaatan bahan alam untuk pengobatan dan menjaga kesehatan atau melalui penelitian terhadap bahan-bahan alam baru yang diprediksikan memiliki khasiat sebagai obat (Wasito, 2008). Sehingga berbagai penelitian terus dilakukan para ilmuwan untuk menemukan obat-obat terbaru yang dapat mengatasi permasalahan seksualitas. Dikarenakan beberapa obat-obat modern mengandung bahan kimia yang memiliki efek samping baik berupa efek samping langsung maupun tidak langsung atau terakumulasi. Hal ini terjadi karena bahan kimia bersifat anorganik dan murni sementara tubuh bersifat organik dan kompleks. Sehingga bahan kimia bukan bahan yang benar-benar cocok untuk tubuh. Penggunaan bahan kimia pada tubuh dianggap sebagai sesuatu yang tidak terhindarkan dan digunakan secara terbatas yang dapat diterima dan ditoleransi oleh tubuh.

Maka dari itu, untuk mengatasi masalah infertilitas lebih baik dengan cara memanfaatkan obat-obatan dari alam atau biasanya disebut sebagai ramuan tradisional (jamu). Salah satu bahan ramuan yang terkenal dapat menyembuhkan masalah-masalah seksualitas adalah rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) sebagai salah satu penyusun utama ramuan jamu “Subur Kandungan” yang sudah digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat etnis Madura. Kandungan fitokimia, aktivitas antioksidan dan aktivitas antimikroba dari rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) tersebut dianggap menjadi faktor penting dalam meningkatkan fertilitas wanita yang telah dipercaya masyarakat selama ratusan tahun dalam pengobatan tradisional. Sehingga penelitian ini menjadi langkah awal untuk proses standardisasi rimpang jeringau sebagai bahan dasar berbagai obat tradisional (jamu) dan nantinya pengobatan tradisional bisa diterima dalam sistem pengobatan modern serta mampu meningkatkan kesehatan masyarakat.

Sebagaimana tentang tanaman-tanaman yang memiliki berbagai manfaat telah disebutkan Allah ﷻ dalam QS. Asy-Syu'araa' ayat 7-9:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ

مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾ وَإِنَّ رَبَّكَ لَهُوَ الْعَزِيزُ الرَّحِيمُ ﴿٩﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman. Dan sesungguhnya Tuhanmu benar-benar Dialah yang Maha Perkasa lagi Maha Penyayang.” (QS. Asy-Syu'araa': 7-9).

Kata *ila/ke* pada firman-Nya di awal ayat ini: *awalam yara ila al-ardh/apakah mereka tidak melihat ke bumi* merupakan kata yang mengandung makna *batas akhir*. Ia berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka tanah dan tumbuhannya dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhannya (Shihab, 2002).

Kata *zauj* berarti *pasangan*. Pasangan yang dimaksud ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan-pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya. Kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Ayat di atas menunjukkan betapa kuasanya Allah ﷻ yang telah menumbuhkan pelbagai tanaman-tanaman yang tentu semuanya itu tidak diciptakan dengan sia-sia dan bermanfaat bagi makhluk-Nya. Indonesia yang memiliki puluhan ribu spesies tumbuhan obat telah diidentifikasi 1.845 sifat obat dan tercatat sampai bulan April 2014, terdapat 283 spesies yang telah dieksplorasi senyawa aktifnya. Oleh karenanya masih dianggap perlu dalam melakukan penelitian untuk mendapatkan data yang dapat mendukung pemakaian empiris tanaman obat. Sehingga dapat digunakan sebagai obat alternatif yang lebih luas serta dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah. Al Qurthubi (2009) dalam

tafsirnya mengartikan ayat tersebut yakni menunjukkan bahwa Allah ﷻ memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya. Maksudnya dalam hal apa yang disebutkan, seperti tumbuh-tumbuhan yang ada di bumi untuk menunjukkan bahwa Allah Maha Kuasa dan tidak bisa dikalahkan oleh sesuatu apapun.

Menurut Savitri (2008) tumbuhan yang baik dalam hal ini ialah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit, dan ini merupakan anugerah Allah ﷻ yang harus dipelajari dan dimanfaatkan. Seperti halnya disebutkan dalam QS. An-Nahl: 13 berikut ini:

وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ ﴿١٣﴾

Artinya: “Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran.” (QS. An-Nahl: 13).

Menurut Al Qurthubi (2009) maksud dari menundukkan adalah Dia mengendalikan apa-apa yang telah diciptakan. Dia membuat dan mengadakan binatang-binatang, pepohonan itu berlain-lainan macamnya. Orang-orang yang mengambil nasihat dan mengetahui bahwa dalam pengendalian semua alam ciptaan ini terdapat tanda-tanda yang menunjukkan kepada keesaan Allah ﷻ. Dan tidak ada satu orangpun selain Dia yang mampu melakukan yang demikian itu.

Sehingga ayat tersebut mengisyaratkan agar kita mencari dan mempelajari berbagai tumbuhan yang telah diciptakan berlainan macamnya. Selain agar kita dapat mengetahui keesaan Allah melalui ciptaan-ciptaan-Nya juga untuk

memberikan manfaat bagi kehidupan manusia. Antara lain sebagai bahan pangan, bahan sandang, papan, dan bahan obat-obatan. Savitri (2008) menyatakan bahwa begitu banyak manfaat tumbuh-tumbuhan bagi makhluk hidup lain, khususnya manusia.

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi bermanfaat sebagai obat yaitu jeringau (*Acorus calamus* L.). Jeringau (*Acorus calamus* L.) termasuk dalam golongan rempah-rempah yang sudah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia (Hasnah *et al*, 2012). Rimpang jeringau merupakan rempah dan bahan obat tradisional yang penting bagi bangsa Indonesia dan telah menjadi bagian dari budaya bangsa. Berdasarkan pengalaman empiris menurut Anisah (2014) jeringau merupakan tanaman yang tumbuh liar di daerah rawa, sawah, ataupun ditanam sebagai tanaman hias pekarangan. Masyarakat secara tradisional menggunakan rimpang jeringau untuk mengobati diare, disentri, cacingan atau digunakan pada wanita setelah bersalin bersama bahan obat lain dengan cara ditumbuk atau direbus.

Saman (2013) menyatakan bahwa secara tradisional tanaman jeringau banyak digunakan sebagai obat sakit perut dan penyakit kulit. Namun beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh Hartati (2012^a), menunjukkan bahwa ekstrak rimpang jeringau mempunyai aktivitas biologi terhadap mikroba seperti bakteri *Salmonella typhosa*, jamur *Candida albicans*, virus, dan nematoda maupun terhadap serangga hama dan vektor patogen yang merugikan manusia, hewan, dan tanaman.

Aktivitas tersebut berhubungan dengan senyawa yang dikandungnya terutama dari golongan terpen, alkohol, aldehid, dan fenol seperti karvakrol, eugenol, timol, sinamaldehyd, asam sinamat, dan perilaldehid (Burt, 2007; Hartati, 2012^a). Jeringau termasuk dalam rempah-rempah yang sudah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia. Tanaman ini mengandung minyak atsiri yang disebut sebagai minyak kalamus (*calamus oil*). Penggunaan minyak kalamus tidak terbatas pada makanan dan minuman, tetapi juga untuk pewangi detergen, sabun, krim alat kecantikan, dan yang paling penting merupakan bahan untuk diramu dalam obat-obat tradisional. Di Vietnam, minyak kalamus (*calamus oil*) dapat digunakan untuk memperpanjang masa simpan jagung pipilan, dan bisa digunakan sebagai agen antibakteri dan agen antijamur (Rustini, 2010).

Perlu diketahui bahwa, infertilitas tidak hanya disebabkan oleh mikroba patogen melainkan radikal bebas juga mampu menjadi penyebab dari infertilitas. Sehingga senyawa antioksidan dibutuhkan oleh tubuh untuk menangkal radikal bebas tersebut. Menurut Perwiratami (2014), selain mengandalkan antioksidan dari dalam tubuh, manusia juga membutuhkan antioksidan dari luar tubuh untuk mencapai keseimbangan. Antioksidan alami lebih dipercaya dibandingkan dengan antioksidan sintetik karena beberapa kelebihan, yaitu relatif lebih aman, tidak toksik dan tidak memberikan efek samping. Beberapa senyawa yang dapat berfungsi sebagai antioksidan antara lain senyawa polifenol (asam fenolat dan flavonoid), alkaloid, steroid atau triterpenoid (saponin), serta antrakuinon.

Riset mengenai senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh,

hingga saat ini masih dilakukan di seluruh dunia (Luo *et al*, 2014). Penggunaan senyawa antioksidan saat ini berkembang dengan pesat, baik untuk makanan maupun pengobatan. Hasil penelitian pada tahun 1980-an yang menunjukkan bahwa beta karoten mampu mengurangi resiko kanker dan paru-paru, merupakan ide awal perhatian terhadap keterkaitan antioksidan dalam menghambat suatu penyakit. Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif (Husnah, 2009).

Penelitian terkait uji efektifitas dari ekstrak rimpang jeringau sudah pernah dilakukan. Beberapa di antaranya yakni Saman (2013) melaporkan dalam penelitiannya mengisolasi senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol rimpang jeringau menggunakan metode DPPH. Pada fraksi etil asetat dan metanol memiliki aktivitas antioksidan yang sedang (225,50 ppm dan 230,20 ppm), fraksi n-heksan memiliki aktivitas antioksidan lemah (261,48 ppm) dan pada fraksi air aktivitas antioksidannya tidak aktif (942,52 ppm). Azizah (2013) melakukan penelitian terhadap khasiat ekstrak etanol rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) sebagai anti jamur *Candida albicans* menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang jeringau mempunyai daya antijamur terhadap *Candida albicans* dengan kadar bunuh minimal (KBM) 0,25% (b/v). Sedangkan Hartanto (2005) melakukan penelitian perbandingan daya antijamur minyak atsiri rimpang kering jeringau (*Acorus calamus* L.) yang didapat dengan cara destilasi dan ekstraksi n-heksana terhadap jamur *Candida albicans* serta profil KLT spektrum. Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa baik minyak atsiri maupun

ekstrak n-heksana rimpang kering jeringau sama-sama memiliki daya antijamur. Daya antijamur yang diberikan oleh ekstrak n-heksana lebih besar dibanding minyak atsiri.

Salah satu upaya mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam dari rimpang jeringau perlu dilakukan penelitian lebih mendalam yaitu sebagai antioksidan dan antifungi dengan beberapa pelarut organik pada proses ekstraksi. Pelarut dipilih berdasarkan tingkat kepolaran dengan tujuan memperoleh pelarut terbaik yaitu pelarut dapat mengekstrak dalam jumlah besar dan dapat mengekstrak golongan senyawa antioksidan dan antifungi yang mempunyai aktivitas tertinggi. Menurut Husnah (2009) variasi pelarut perlu dilakukan karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan dan antifungi dalam ekstrak belum diketahui sifat kepolarannya. Ekstraksi dengan pelarut yang berbeda umumnya dapat mengekstrak jenis golongan senyawa yang berbeda pula. Sehingga berdasarkan latar belakang di atas, maka dianggap perlu untuk melakukan uji pengaruh ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam beberapa pelarut organik terhadap aktivitas antioksidan dan antifungi secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini ialah:

1. Apakah ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam beberapa pelarut organik berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan *in vitro*?
2. Apakah ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam beberapa pelarut organik berpengaruh terhadap aktivitas antifungi secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan pelarut organik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) secara *in vitro*.
2. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan pelarut organik terhadap aktivitas antifungi ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. Perbedaan pelarut organik pada ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan secara *in vitro*.
2. Perbedaan pelarut organik pada ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) berpengaruh nyata terhadap aktivitas antifungi secara *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh yaitu:

1. Sebagai sumber informasi bagi mahasiswa, peneliti dan masyarakat umum dalam memanfaatkan tanaman obat. Serta dapat dijadikan sebagai sumbangan data etnobotani kepada museum etnobotani Indonesia.
2. Terungkapnya informasi tentang potensi bahan alam *Acorus calamus* L. secara ilmiah yang digunakan sebagai bahan obat infertilitas. Sehingga dapat dijadikan sumber solusi alternatif untuk mengatasi masalah (penyakit) infertilitas yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*.

3. Jamu yang berbahan rimpang jeringau dapat diterima oleh masyarakat luas (bukan hanya masyarakat tradisional) karena telah diketahui standarnya. Sehingga berpotensi untuk meningkatkan ekonomi dan kesehatan masyarakat sebagai produk unggulan lokal. Sehingga memberikan nilai tambah dan dapat meningkatkan nilai jualnya baik di pasar domestik maupun global.

1.6 Batasan Masalah

Batasan dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan berupa serbuk simplisia kering rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) yang didapatkan dengan membeli dari UPT. Materia Medica Jln. Lahor No. 87 Batu 65313 Jawa Timur Indonesia.
2. Isolat jamur *Candida albicans* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Pelarut organik pada proses ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan tiga macam pelarut yang berbeda berdasarkan sifat kepolarannya, antara lain: etanol p.a (polar), kloroform p.a (semi polar), n-heksana p.a (non polar).
4. Uji antioksidan dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode DPPH (1-1-difenil-2-pikrihidrazil).
5. Uji antifungi dilakukan secara *in vitro* dengan penentuan diameter zona hambat, Konsentrasi Hambat Minimal (KHM), dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Islam Tentang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Alam semesta beserta isinya diciptakan oleh Allah ﷻ. Ada proses penciptaan, dari ketiadaan menjadi ada, dan akhirnya hancur. Di antaranya ada penciptaan manusia dan makhluk hidup lainnya. Dalam proses tersebut, di sana berlangsung pula ribuan, bahkan jutaan proses fisika, kimia, biologi dan proses-proses lain yang tidak diketahui manusia. Salah satu dari ciptaan Allah ﷻ itu sendiri adalah tumbuhan. Pada tumbuhan itu sendiri banyak terdapat fenomena alam sebagai bukti bagi manusia bahwa segala ciptaannya telah diatur untuk kelangsungan hidup manusia (Raharto, 2005; Rizal, 2010). Kemudian mengenai penciptaan tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan, dalam surat Al-An'am ayat 95 dan 99 dijelaskan sebagai berikut:

* إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى ۖ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَيُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ ۚ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ ۗ

فَأَنَّى تُؤْفَكُونَ ﴿٩٥﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (Yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?*” (QS. Al-An'am: 95).

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



Artinya: “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 kurma 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.” (QS. Al-An’am: 99).

Ayat di atas menunjukkan kemahakuasaan Allah ﷻ dalam menciptakan segala macam tumbuhan. Al Maraghi (1992) dalam tafsirnya memberi penjelasan tentang ayat ini. Sesungguhnya Allah ﷻ menumbuhkan apa yang kalian tanam, berupa benih tanaman yang dituai dan biji buah; juga membelah dengan kekuasaan dan perhitungan-Nya, dengan menghubungkan sebab dan musabab. Dia mengeluarkan tumbuh-tumbuhan yang tidak berbatang atau berbatang.

Termasuk pula tanaman jeringau (*Acorus calamus* L.) yang merupakan tumbuhan terana, rimpangnya dapat dijadikan bahan obat-obatan. Manusia dan tumbuh-tumbuhan sangat erat kaitannya dalam kehidupan. Banyak sekali nilai manfaat yang didapatkan oleh manusia dari tumbuh-tumbuhan namun masih banyak pula tumbuh-tumbuhan yang ada di sekitar kita yang belum diketahui

manfaatnya. Keberadaan tumbuh-tumbuhan merupakan berkah dan nikmat Allah ﷻ yang diberikan kepada seluruh makhluknya. Allah ﷻ menciptakan tumbuhan tidaklah sia-sia. Dalam satu jenis tumbuhan memiliki beraneka ragam manfaat, bahkan jauh lebih banyak dari pada yang telah diketahui manusia.

Setiap penyakit yang menimpa makhluk Allah ﷻ pasti ada obatnya karena sesungguhnya Allah ﷻ telah menyiapkan segala macam obat untuk menyembuhkan penyakit karena sesungguhnya Allah ﷻ telah menyiapkan segala macam obat untuk menyembuhkan penyakit. Sesuai sabda Rasulullah ﷺ:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً، جَهْلُهُ مَنْ جَهِلَهُ وَعَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.*” (HR. Ahmad 1/377, 413 dan 453. Dan hadits ini dishahihkan dalam Ash-Shahihah no. 451).

Hadits di atas sangat jelas menerangkan bahwa sesungguhnya penyakit yang diturunkan oleh Allah ﷻ selalu ada obatnya. Namun, manusia harus tetap berikhtiar untuk menemukan obat yang dapat menyembuhkan penyakitnya karena Allah ﷻ telah menciptakan berbagai macam obat. Seperti halnya penelitian yang telah dilakukan terhadap kandungan kimia dan aktivitas biologi dari tanaman *A. calamus* L. yaitu aktivitas antelmintik dari ekstrak etanol *A. calamus* L. yang tumbuh di Afrika Selatan, antifungi, antioksidan, penghambatan terhadap FeCl, yang menginduksi epileptogenesis pada tikus, antihepatotoksik dan antioksidan, antihiperlipidemia dan antibakteri (Hartati, 2012^b).

Tanaman-tanaman yang memiliki berbagai manfaat telah disebutkan Allah

ﷻ dalam QS. Asy-Syu'araa' ayat 7-9:

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

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman. Dan sesungguhnya Tuhanmu benar-benar Dialah yang Maha Perkasa lagi Maha Penyayang.” (QS. Asy-Syu'araa': 7-9).

Tumbuh-tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, salah satunya dapat digunakan sebagai bahan pengobatan. Tumbuhan yang berlainan jenisnya dan dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit ini merupakan anugerah dari Allah ﷻ, maka harus dipelajari dan dimanfaatkan seperti disebutkan dalam QS. Al-Qashash ayat 57:

وَقَالُوا إِن نَّبَعِ الْهُدَىٰ مَعَكَ نُنْخِطِفُ مِنْ أَرْضِنَا أَوْ لَمْ نُمْكِن لَهُمْ حَرَمًا ءَامِنًا تَجِبَىٰ إِلَيْهِ ثَمَرَاتُ كُلِّ شَيْءٍ رِّزْقًا مِّن لَّدُنَّا وَلَٰكِنَّ أَكْثَرَهُمْ لَا يَعْلَمُونَ ﴿٥٧﴾

Artinya: “Dan mereka berkata: "Jika Kami mengikuti petunjuk bersama kamu, niscaya Kami akan diusir dari negeri kami". dan Apakah Kami tidak meneguhkan kedudukan mereka dalam daerah Haram (tanah suci) yang aman, yang didatangkan ke tempat itu buah-buahan dari segala macam (tumbuh- tumbuhan) untuk menjadi rezki (bagimu) dari sisi Kami?. tetapi kebanyakan mereka tidak mengetahui.” (QS. Al-Qashash: 57)

2.2 Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.)

2.2.1 Deskripsi

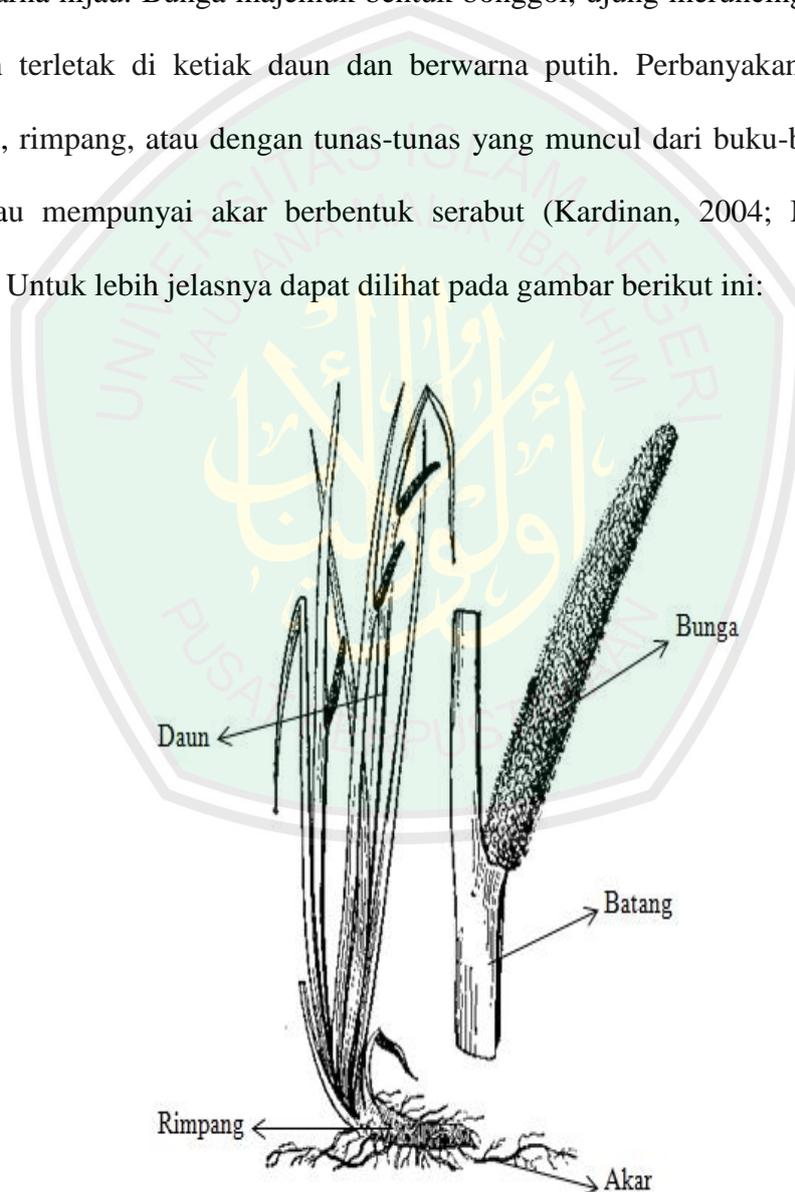
Tanaman jeringau (*Acorus calamus* L.) diklasifikasikan sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Kingdom : Plantae
 Divisio : Magnoliophyta
 Classis : Liliopsida
 Sub classis : Arecidae
 Ordo : Arales
 Familia : Araceae
 Genus : *Acorus*
 Spesies : *Acorus calamus* L.

Sinonim dari *Acorus calamus* L. di antaranya *A. terrestris* Spreng, *A. calamus* L. var. *verus*. Di berbagai daerah tumbuhan jeringau memiliki nama yang beragam, di antaranya: Alumongo (Gorontalo), Jeurunger (Aceh), Jerango (Gayo), Jerango (Batak), Jarianggu (Minangkabau), Daringo (Sunda), Dlingo (Jawa Tengah), Jharango (Madura), Jangu (Bali), Kaliraga (Flores), Jeringo (Sasak), Jariangau (Kalimantan), Kareango (Makasar), Kalamunga (Minahasa), Areango (Bugis), Ai wahu (Ambon), Bila (Buru). Nama simplisia: Calami Rhizoma (rim pang jeringau). Nama Inggris: *Sweet Flag*, *Sweet root*, *Calamus* (Haryanto, 2010). *Acorus americanus* (Raf.) Raf. (Sweet flag), *Acorus gramineus* (Japanese sweet flag).

Diperkirakan tumbuhan ini asli berasal dari anak benua India dan menyebar ke berbagai penjuru dunia melalui perdagangan rempah-rempah. Di benua Amerika tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) dipertukarkan dengan kerabatnya yang asli dari sana (*Acorus americanus*) (Pakasi dan Christina, 2013).

Jeringau tergolong jenis herbal menahun berbentuk mirip rumput, tetapi tinggi sekitar 75 cm dengan daun dan rimpang yang beraroma kuat. Tumbuhan ini biasa hidup di tempat lembab, seperti rawa dan air pada semua ketinggian tempat. Batang basah, pendek, membentuk rimpang, dan berwarna putih kotor. Daunnya tunggal, bentuk lanset, ujung runcing, tepi rata, panjang 60 cm, lebar sekitar 5 cm, dan warna hijau. Bunga majemuk bentuk bonggol, ujung meruncing, panjang 20-25 cm terletak di ketiak daun dan berwarna putih. Perbanyakkan dengan stek batang, rimpang, atau dengan tunas-tunas yang muncul dari buku-buku rimpang. Jeringau mempunyai akar berbentuk serabut (Kardinan, 2004; Muchtaromah, 2014). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 2.1 Tanaman Jeringau (<http://plantlife.ru/>)

Selama masa 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; Muchtaromah, 2014).

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

Tabel 2.1 Komposisi Minyak Atsiri Jeringau (Agusta, 2000)

No.	Senyawa	Kandungan (%)
1.	Metil eugenol	1,25
2.	α -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-7 α -isopropil 4 $\alpha\beta$, 8 $\alpha\beta$ -dimetil 2(1H)-naftalena	0,59
7.	β -Asaron	2,70
8.	α -Asaron	79,70
9.	Asaron	4,29

Kandungan kimia selain minyak atsiri antara lain: glukosida acorin ($C_{36}H_{60}O_6$), acoretin, calamin, calamenenol, cholin, tannin, sesquiterpen, terpenoid, flavanoid dan alkaloid (Hendrajaya, 2003). Berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif yang dilakukan oleh Azzahra (2015) pada ekstrak rimpang jeringau etanol p.a positif mengandung senyawa golongan alkaloid dan triterpenoid. Sedangkan ekstrak rimpang jeringau kloroform p.a hanya positif triterpenoid dan untuk ekstrak rimpang jeringau n-heksana p.a sama dengan hasil uji pada ekstrak etanol p.a yaitu positif alkaloid dan triterpenoid.

2.2.3 Manfaat Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Rimpang jeringau mengandung minyak atsiri, sterol, resin, tannin, lender, glukosa dan kalsium oksalat. Rimpang jeringau secara empiris digunakan untuk obat reumatik, malaria, demam nifas, bengkak, empedu berbatu dan reumatik (Padua *et al*, 1999; Sa'roni, 2002). Menurut Pakasi dan Christina (2013), minyak kalamus biasanya digunakan sebagai obat berbagai penyakit. Penyakit yang

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

Studi etnobotani terhadap tumbuhan obat Indonesia, jeringau termasuk jenis tumbuhan obat yang dimanfaatkan oleh dukun beranak dan dukun kampung Suku Melayu (Sari, 2014). Selain itu digunakan dalam upacara adat kenduri sko di beberapa Kecamatan di Kabupaten Kerinci, Jambi (Suswita, 2013). Mengobati sakit perut (mulas) oleh Suku Dayak Pesaguan (Due, 2013). Sedangkan menurut Ramawat (2004), jeringau ini biasanya digunakan sebagai minyak urapan dalam upacara atau ritual penahbisan imam dan penahbisan raja (seperti Daud dan Salomo) serta digunakan oleh orang Banjar sebagai penghalau kuyang dan pengusir roh-roh jahat. Jeringau juga digunakan sebagai pewarna merah pada ritual Mangkok Merah.

2.3 Antioksidan

2.3.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah zat penghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit. Antioksidan dapat menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas atau menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul, seperti DNA, protein, dan lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit dan penyakit degeneratif (Devasagayam *et al*, 2004; Sie, 2013). Antioksidan mempunyai arti pelawan oksidasi. Antioksidan bekerja untuk melindungi lipid dari oksidasi oleh radikal. Antioksidan sangat efektif sebagai pereduksi, sebab senyawa ini mampu mendonorkan elektron pada radikal bebas (Dekkers, 1966; Zainurrahman, 2005).

Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil dan mempunyai kereaktifan yang tinggi. Senyawa ini secara kontinyu dihasilkan oleh sistem biologi sebagai konsekuensi dari proses biologi normal. Secara termodinamika senyawa tersebut dikatakan tidak stabil, hal ini disebabkan kekuatan ikatan antar atom-atom penyusunnya lemah, sedangkan secara kinetika sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan (Takashi, 1997; Zainurrahman, 2005).

Nareswati (2007) dan Eskin (2001) menyebutkan bahwa antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang secara nyata dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang rendah. Menurut Husnah (2009) antioksidan dalam bahan pangan digunakan untuk mempertahankan mutu produk pangan.

Berbagai kerusakan seperti ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain pada produk pangan karena oksidasi dapat dihambat oleh antioksidan. Antioksidan dapat diperoleh dari bahan alam yaitu dari buah-buahan. Widyastuti (2010) menyatakan bahwa suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila mengandung senyawa yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol dan flavonoid serta senyawa lain, seperti asam ursolat, asam betulinat, dan asam oleat.

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen terdapat secara alamiah dari dalam tubuh sedangkan antioksidan eksogen dari luar tubuh Percival (1998). Dalam keadaan normal, secara fisiologis sel memproduksi radikal bebas sebagai konsekuensi logis akibat reaksi biokimia dalam metabolisme sel aerob atau metabolisme xenobiotik. Tubuh secara alami memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan endogen intrasel yang terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti Superoksida Dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (Sanmugapriya dan Venkataraman, 2006). Antioksidan yang terdapat dalam tubuh harus terdapat dalam jumlah yang memadai. Pada keadaan patologik di antaranya akibat terbentuknya radikal bebas dalam jumlah berlebihan, enzim-enzim yang berfungsi sebagai antioksidan endogen dapat menurun aktivitasnya.

Antioksidan eksogen sendiri dibedakan menjadi antioksidan alami dan sintetis (Miller, 1996). Antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetis yang diizinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu BHA (*butylated hydroxytoluene*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), PG (propil galat), TBHQ (*tertiary butylhydroquinone*) dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial (Ardiansyah, 2011). Antioksidan sintetis BHA, BHT, PG dan TBHQ sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Oleh karena itu penelitian dan pengembangan antioksidan yang berasal dari alam kini sedang giat-giatnya dilakukan sebagai alternatif pengganti antioksidan sintetis (Shahidi, 1995).

Penelitian menunjukkan bahwa antioksidan alami memiliki aktivitas antioksidatif lebih tinggi daripada antioksidan sintetis, karena itu, antioksidan alami mulai meningkat penggunaannya dan menggantikan antioksidan sintetis (Paiva, 1999). Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan dalam kulit buah kandis menunjukkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat kulit buah kandis memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dari pada BHA dan BHT (Arsianti, 2008). Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi, 1996).

Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Ardiansyah, 2011).

2.3.2 Mekanisme Antioksidan

Kochar dan Rossel (1990) dalam Trilaksana (2003) menyatakan bahwa antioksidan dapat bekerja dengan dua cara:

1. Berperan sebagai donor atom hidrogen pada radikal bebas lemak untuk membentuk kembali molekul lemak, dengan demikian jika antioksidan diberikan maka akan menghambat proses autooksidasi.
2. Berperan sebagai donor atom hidrogen pada radikal bebas untuk membentuk hidroperoksida dan sebuah radikal bebas antioksidan. Radikal bebas antioksidan ini lebih stabil daripada radikal bebas lemak karena struktur resonansi elektron dalam cincin aromatik antioksidan, dengan demikian akan menghentikan reaksi oksidasi berantai.

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^\bullet , ROO^\bullet) atau mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^\bullet) tersebut memiliki keadaan lebih stabil

dibanding radikal lipida (Trilaksani, 2003). Menurut Gordon (1990) dalam Trilaksani (2003) fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil.

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Radikal-radikal antioksidan (A^\bullet) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Trilaksani, 2003 dan Jadhaf, 1996).

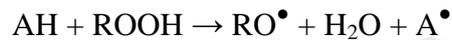
Autooksidasi dapat dihambat dengan menambahkan antioksidan (AH) dalam konsentrasi rendah yang dapat berasal dari penginterferensian rantai propagasi atau inisiasi. Radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal (Hamilton, 1994):



Gambar 2.3 Reaksi Penghambatan Antioksidan Antar Radikal Antioksidan (Hamilton, 1994)

Radikal bebas A^\bullet antioksidan dapat distabilkan dengan resonansi dan juga dengan reaksi antar radikal-radikal antioksidan (Hamilton, 1994). Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan

antioksidan tersebut menjadi prooksidan (suatu zat yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif) (Gambar 2.4). Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji (Gordon, 1990; Trilaksani, 2003).



Gambar 2.4 Antioksidan Bertindak Sebagai Prooksidan pada Konsentrasi Tinggi (Gordon, 1990; Trilaksani, 2003)

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat merubah aktivitas apabila melebihi yaitu dari aktivitas sebagai antioksidan berubah menjadi aktivitas sebagai prooksidan. Islam selalu menganjurkan manusia untuk hidup sederhana termasuk kesederhanaan dalam hal makan, tidak boleh berlebih-lebihan. Senyawa antioksidan tersebut dapat beraktivitas bila masih dalam batas konsentrasi tertentu, apabila melebihi batas konsentrasi tersebut maka aktivitasnya dapat berubah menjadi prooksidan sehingga dapat mendatangkan efek negatif, seperti munculnya penyakit kanker dan gangguan liver, terutama untuk penggunaan di atas ambang batas (Husnah, 2009).

Stuckey (1972) dalam Kurniawan (2006), berpendapat bahwa penghambatan oksidasi lipid oleh antioksidan melalui lebih dari satu mekanisme tergantung pada kondisi reaksi dan sistem makanan. Ada empat kemungkinan mekanisme penghambatan tersebut yaitu (a) pemberian hidrogen, (b) pemberian elektron, (c) penambahan lipida pada cincin aromatik antioksidan, dan (d) pembentukan kompleks antara lipida dan cincin aromatik antioksidan. Studi lebih

lanjut mengamati bahwa ketika atom hidrogen labil pada suatu antioksidan tertentu diganti dengan deuterium (isotop hidrogen yang massa atomiknya hampir dua kali hidrogen biasa, karena kehadiran neutron dan proton dalam inti) maka antioksidan tersebut menjadi tidak efektif. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme penghambatan dengan pemberian hidrogen lebih baik dibanding pemberian elektron. Beberapa peneliti percaya bahwa pemberian hidrogen atau elektron merupakan mekanisme utama, sementara pembentukan kompleks antara antioksidan dengan lipida adalah reaksi sekunder.

2.3.3 Peranan Antioksidan Terhadap Kesehatan

Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Berbagai kerusakan seperti ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain pada produk pangan karena oksidasi dapat dihambat oleh antioksidan (Cuppert, 1997; Trilaksani, 2003). Secara alami, antioksidan dapat diperoleh dari sayur dan buah yang kita konsumsi setiap hari.

Arnelia (2006) menjelaskan bahwa antioksidan fitokimia mempunyai efek biologi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan kanker. Antioksidan mempunyai sifat menghambat pertumbuhan mikroba, menurunkan kolesterol darah, menurunkan kadar glukosa darah, bersifat antibiotik, dan menimbulkan efek peningkatan kekebalan. Sekitar 30.000 fitokimia yang sudah diketahui sekarang, sebanyak 5.000-10.000 terdapat dalam bahan pangan dan hamper 400.000 jenis tanaman mengandung fitokimia. Salah satu pusat penelitian kanker

di Amerika yaitu *National Cancer Institute* dan *European School of Oncology Task Force on Diet, Nutrition and Cancer* merekomendasikan untuk mengonsumsi buah dan sayuran yang cukup untuk mencegah terjadinya penyakit kanker. Fitokimia sudah terbukti dapat mencegah timbulnya kanker kolon, payudara, usus dan lambung.

Umumnya masyarakat Jepang atau beberapa masyarakat Asia jarang mempunyai masalah dengan berbagai penyakit degeneratif, hal ini disebabkan oleh menu sehat tradisionalnya yang kaya zat gizi dan komponen bioaktif. Zat-zat ini mempunyai kemampuan sebagai antioksidan, yang berperan penting dalam menghambat reaksi kimia oksidasi, yang dapat merusak makromolekul dan dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan. Proses penuaan dan penyakit degeneratif seperti kanker kardiovaskuler, penyumbatan pembuluh darah yang meliputi hiperlipidemik, aterosklerosis, stroke, dan tekanan darah tinggi serta terganggunya sistem imun tubuh dapat disebabkan oleh stress oksidatif. Stress oksidatif adalah keadaan tidak seimbangnya jumlah oksidan dan prooksidan dalam tubuh. Pada kondisi ini, aktivitas molekul radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menimbulkan kerusakan seluler dan genetika. Kekurangan zat gizi dan adanya senyawa *xenobiotik* (zat asing) dari makanan atau lingkungan yang terpolusi akan memperparah keadaan tersebut (Trilaksani, 2003).

2.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

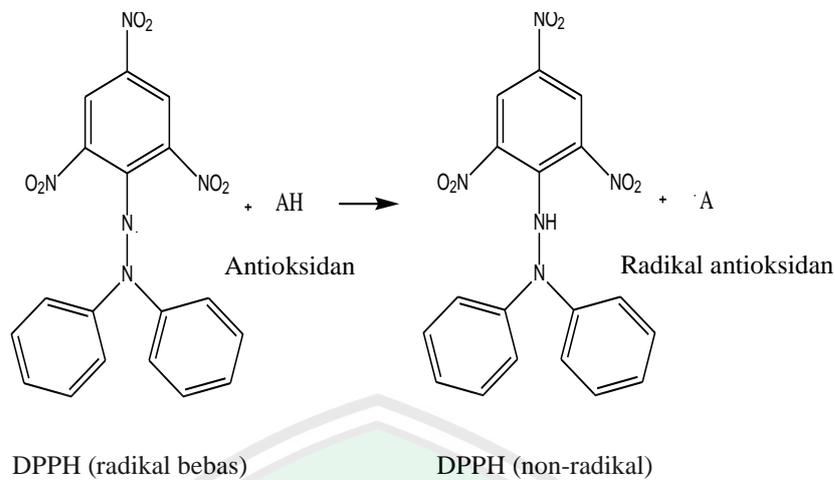
Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode di antaranya DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*), FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) dan CUPRAC (*cupric ion reducing antioxidant capacity*) (Widyastuti, 2010). Aktivitas antioksidan dari suatu makanan dapat berbeda bila diuji dengan metode yang berbeda. Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Beberapa metode lain terbatas mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisa. Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak atau pun dalam air (Prakash, 2001).

Selain itu, metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005). Cahaya tampak pada panjang gelombang 517 nm memberikan warna ungu (Day, 1998). Menurut Molyneux (2004) dalam Septiani (2012) larutan DPPH menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang (λ) 512 – 520 nm. DPPH mempunyai massa molar (Mr) ($C_{18}H_{12}N_5O_6 = 394,33$).

Metode DPPH juga telah digunakan beberapa tahun lalu untuk mengetahui jumlah antioksidan pada sistem biologis kompleks. Metode DPPH tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, tetapi untuk semua senyawa antioksidan dalam sampel. Pengukuran kapasitas total antioksidan akan membantu memahami sifat fungsional suatu makanan (Prakash, 2001).

DPPH digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen, dan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan makanan. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Warna tersebut akan berubah menjadi kuning saat radikal DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Diskolorisasi yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Peningkatan diskolorisasi mengindikasikan adanya peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Prakash, 2001).

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan radikal antioksidan (Prakash, 2001). Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.5:



Gambar 2.5 Reaksi *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH) dengan Antioksidan (Prakash, 2001).

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan % aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan rumus (Molyneux, 2004):

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

Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai Absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai Absorbansi kontrol tetap dapat memberikan *baseline* untuk pengukuran saat itu. Apabila tidak ada perubahan-perubahan nyata pada nilai ini (seperti contoh, ketika mengulang pengukuran pada saat itu) mengindikasikan bahwa sistem pengukuran tersebut (termasuk spektrofotometer atau fotometer) adalah sangat stabil. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran. Serangkaian pengukuran

ini merupakan suatu ungkapan umum tentang keseluruhan dari prosedur pengukuran. Pada kenyataannya apakah konsentrasi itu tetap terjaga konstan atau tidak itu tergantung pada bagaimana larutan tersebut bercampur misalnya 2 ml ditambah 2 ml, atau 3,9 ml ditambah 0.1 ml, dan lain sebagainya, tapi konsentrasi tersebut secara efektif dapat terjaga secara tepat untuk tujuan-tujuan perhitungan jika terdapat faktor pengenceran pada prosedur pengukuran tersebut (Molyneux, 2004).

Larutan DPPH yang berisi ekstrak sampel diukur serapan cahayanya dan dihitung aktivitas antioksidannya dengan menghitung persentase inhibisi, yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas DPPH. Parameter yang juga digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan adalah IC_{50} , yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50% (Molyneux 2004).

Untuk menentukan IC_{50} , diperlukan persamaan kurva standar dari % inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi fraksi antioksidan sebagai sumbu x . IC_{50} dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Dalam hal ini diharapkan bahwa radikal bebas dapat ditangkap oleh senyawa antioksidan hanya dengan konsentrasi yang kecil (Molyneux 2004).

2.5 Ekstraksi Golongan Senyawa Antioksidan dengan Variasi Pelarut

2.5.1 Prinsip Ekstraksi

Prinsip ekstraksi pelarut berbeda dengan ekstraksi mekanis. Ekstraksi mekanis dilakukan berdasarkan perbedaan tekanan, sedangkan ekstraksi pelarut berdasarkan kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Kelarutan suatu komponen tergantung pada derajat polaritas pelarut yang ditentukan oleh konstanta dielektrikum Tabel 2.2 (Sax, 1998).

Tabel 2.2 Konstanta Dielektrikum dan Tingkat Kelarutan Beberapa Pelarut dalam Air

No.	Jenis Pelarut	Konstanta Dielektrikum	Tingkat Kelarutan dalam Air
1.	Heksana	1,89	TL
2.	Petroleum eter	1,90	TL
3.	Benzena	2,28	TL
4.	Toluena	2,38	TL
5.	Kloroform	4,81	S
6.	Etil asetat	6,02	S
7.	Metil asetat	6,68	S
8.	Metilen klorida	9,08	S
9.	Butanol	15,08	S
10.	Propanol	20,10	S
11.	Aseton	20,70	L
12.	Etanol	24,30	L
13.	Metanol	33,60	L
14.	Air	78,40	L

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut dalam berbagai proporsi

Sumber: Sax (1998) dalam Husnah (2009)

Faktor-faktor yang menentukan hasil ekstraksi adalah jangka waktu sampel kontak dengan cairan pengekstraksi (waktu ekstraksi), perbandingan antara jumlah sampel terhadap jumlah cairan pengekstraksi (pelarut), ukuran bahan dan suhu ekstraksi. Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Perbandingan jumlah pelarut dengan jumlah bahan berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, jumlah pelarut yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak, namun dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal. Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen mengalami kerusakan. Penggunaan suhu 50°C menghasilkan ekstrak yang optimum dibandingkan suhu 40 °C dan 60 °C (Voight, 1994).

2.5.2 Metode Ekstraksi dengan Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang digunakan, pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut, selain itu untuk mendapatkan ekstraksi yang sempurna dapat diatur lama perendamannya. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam terhadap pelarut tersebut (Lenny, 2006).

Maserasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Ferdiansyah, 2006). Metode maserasi dipilih karena metode ini murah dan mudah dilakukan, selain itu dikhawatirkan senyawa yang terkandung dalam sampel merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Maserasi biasanya dilakukan dengan perbandingan 1 : 2, seperti 100 kg sampel diekstrak dengan 200 L pelarut (Bernasconi, 1995) sedangkan menurut Yenie (2013) perendaman dilakukan dengan cara mencampurkan bahan dengan pelarut dengan rasio 1 : 4 yaitu 100 g bahan baku dan 400 ml pelarut dan untuk mendapatkan ekstrak dalam waktu yang relatif cepat dapat dilakukan pengadukan dengan menggunakan *shaker* berkekuatan 120 rpm selama 24 jam (Yustina, 2008).

2.5.3 Jenis Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi, sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut (Guenther, 2006). Terdapat dua pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut, yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak berbahaya atau tidak beracun. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar, tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen ekstrak, dan titik didih kedua bahan tidak boleh terlalu dekat (Bernasconi, 1995). Menurut Heath dan Reinessius (1987), yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah daya

melarutkan komponen yang diinginkan, titik didih, sifat racun, mudah tidaknya terbakar dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi.

Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Sedangkan senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut non-polar, seperti heksana dan petroleum eter (Gritter *et al.*, 1991). Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia (Depkes RI, 2008). Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987).

2.5.3.1 Etanol

Etanol biasa disebut etil alkohol, hidroksietan atau alkohol diproduksi melalui fermentasi gula, karbohidrat dan pati, biasa digunakan sebagai pelarut, antiseptik, obat penenang, industri parfum dan obat-obatan. Etanol merupakan pelarut organik (Lewis, 1993 dalam Ferdiansyah, 2006). Sifat-sifat etanol seperti pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Sifat-Sifat Etanol

No	Karakteristik	Etanol
1	Nama lain	Etanol, hidroxy ethan, methyl carbinol, ansol
2	Rumus bangun	C_2H_5OH
3	Sifat	Mudah menguap, berbau khas, tidak beresidu
4	Berat molekul (BM)	46,7
5	Titik leleh	-117,3 s/d -112%
6	Titik didih	78,4 °C
7	Berat jenis	0,789 g/ml
8	Kelarutan	Dalam air, eter, kloroform, dan metil alcohol

Sumber: Schefflan (1983)

Etanol merupakan senyawa alkohol dengan formula C_2H_5OH yang berbentuk cair, tidak berwarna, larut dalam air, eter, kloroform dan aseton. Dihasilkan dari peragian kanji, hidrolisis bromoetana dengan kalium hidroksidan (Basri, 1996). Adanya gugus hidroksil (OH) pada alkohol memberikan sifat polar, sedangkan gugus alkil (R) merupakan gugus non polar. Proporsi dari kedua gugus tersebut merupakan faktor yang menentukan sifat alkohol (Whithen, 1988; Kurniawan, 2006).

Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan terlarut. Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Digunakan etanol bukan metanol karena antioksidan yang hendak diekstrak diharapkan dapat diaplikasikan pada produk makanan, minuman dan obat-obatan sehingga aman untuk dikonsumsi sedangkan methanol bersifat toksik (Voight, 1994).

Etanol biasanya digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif yang bersifat antioksidan dan antibakteri pada suatu bahan. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa pelarut etanol lebih baik dari pada air, methanol maupun pelarut lain dalam mengekstraksi senyawa antioksidan maupun antibakteri (Hirasawa, 1999).

2.5.3.2 Kloroform

Kloroform (triklorometana) merupakan salah satu senyawa haloform yang mempunyai rumus kimia CHCl_3 ; zat cair mudah menguap, sukar terbakar (tetapi uapnya mudah terbakar), tidak larut dalam air tetapi larut dalam alkohol dan eter; uapnya bersifat membius dan bila terkena udara dan cahaya dapat membentuk gas fosgen yang beracun. Kloroform digunakan untuk pembuatan senyawa fluorokarbon, sebagai pelarut (cat), dan sebagai anestetik. Kelarutan dalam air pada suhu $25\text{ }^\circ\text{C}$ $7,43 \times 10^3$ mg/L, t.l. $-63,5\text{ }^\circ\text{C}$, t.d. $61,7\text{ }^\circ\text{C}$, d 1,483 (HAM, 2006).

2.5.3.3 Heksana

Nama lain dari Heksana (*hexane*) adalah kaproil hidrida, metil n-butyl metan dengan rumus molekul $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$. Heksana mempunyai karakteristik sangat tidak polar, volatil, mempunyai bau khas yang dapat menyebabkan pingsan. Berat molekul heksana adalah 86,2 dengan titik leleh $-94,3$ sampai $-95,3\text{ }^\circ\text{C}$. Titik didih heksana pada tekanan 760 mmHg adalah 66 sampai $71\text{ }^\circ\text{C}$. Densitas heksana pada suhu $20\text{ }^\circ\text{C}$ sebesar 0,6603 g/ml (Schefflan, 1983; Husnah, 2009).

2.6 Tinjauan Umum Mikroba Uji

Dunia mikroba terdiri dari berbagai kelompok jasad renik. Kebanyakan bersel satu atau uniselular. Ada yang mempunyai ciri sel tumbuhan, ada yang mempunyai ciri sel binatang dan ada lagi yang mempunyai ciri-ciri keduanya. Mikroba terdiri dari lima kelompok organisme yaitu bakteri, protozoa, virus, serta algae dan cendawan mikroskopis. Mikroorganisme sangat erat kaitannya dengan kehidupan kita, beberapa di antaranya bermanfaat dan yang lainnya merugikan. Banyak di antaranya menjadi penghuni tubuh kita (Pelczar dan Chan, 2005). Penelitian ini digunakan mikroba uji berupa jamur *Candida albicans*.

2.6.1 Taksonomi Jamur *Candida albicans*

Klasifikasi *Candida albicans* adalah sebagai berikut:

Divisio	: Thallophyta
Subdivisio	: Fungi
Classis	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliales
Familia	: Cryptococcaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i> (Frobisher, 1983)

2.6.2 Morfologi dan Identifikasi Jamur *Candida albicans*

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

C. albicans dapat meragikan glukosa dan maltosa menghasilkan asam dan gas. Selain itu *C. albicans* juga menghasilkan asam dari sukrosa dan tidak bereaksi dengan laktosa (Jawetz *et al*, 2005).



Gambar 2.6 Jamur *Candida albicans* (<http://www.optimalhealthnetwork.com/>)

2.6.3 Infeksi yang Disebabkan Jamur *C. albicans*

C. albicans menimbulkan suatu keadaan yang disebut kandidiasis, yaitu penyakit pada selaput lendir, mulut, vagina dan saluran pencernaan (Pelczar dan Chan, 2005). Infeksi terbanyak secara endogen, karena jamur telah ada di dalam tubuh penderita, di dalam berbagai organ, terutama di dalam usus. Infeksi biasanya terjadi bila ada faktor predisposisi. Oleh karena itu *C. albicans* dimasukkan sebagai jamur oportunist (Suprihatin, 1982).

Faktor-faktor predisposisi utama infeksi *C. albicans* pada hakikatnya dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok pertama menyuburkan pertumbuhan *C. albicans* seperti diabetes melitus dan kehamilan. Kelompok kedua yaitu memudahkan terjadinya invasi jaringan atau penyakit yang

melemahkan tubuh penderita, misalnya penyakit menahun dan pemberian kortikosteroid (Suprihatin, 1982).

2.6.4 Pengobatan Kandidiasis

Pengobatan terhadap penderita kandidiasis pada hakikatnya harus meliputi kegiatan-kegiatan sebagai berikut (Suprihatin, 1982):

1. Pemberian obat antijamur (antibiotik)

a. Obat derivat poli-en

1) Nistatin

Obat topikal berbentuk krem atau salep dipakai pada kandidiasis kulit, sebagai suspensi pada kandidiasis mulut dan sebagai tablet vagina pada vaginitis. Tablet oral dipakai untuk mengatasi enteritis dan menghilangkan *Candida* dari usus dan dengan demikian mencegah kemungkinan infeksi ulang pada kandidiasis bentuk lainnya.

2) Amfoterisin B

Bentuk kristalnya dipakai sebagai obat topikal baik pada kandidiasis kulit maupun selaput lendir, sebagai obat tunggal atau dikombinasi dengan antibiotik, tanpa menimbulkan reaksi sampingan. Tablet oral dipakai untuk mengatasi infeksi saluran pencernaan dan untuk menghilangkan sumber infeksi yang dapat menyebabkan infeksi tulang.

3) Pimarisin atau Natamisin

Kerja obat ini sebagai obat topikal misalnya sebagai tablet vagina terhadap vaginitis.

4) Trikomisin

Obat ini berkhasiat sebagai obat topikal terhadap kandidiasis kulit dan selaput lendir, tanpa menimbulkan reaksi sampingan.

b. Obat 5-fluorositosin (5-FC)

Obat ini mudah larut di dalam air dan dengan demikian mudah diserap oleh usus, maka pemberian secara oral dapat berkhasiat terhadap infeksi sistemik.

c. Obat derivat imidasol

1) Mikonasol

Penyerapan obat oleh usus sangat rendah, maka penggunaan tablet oral ialah untuk mengatasi kandidiasis usus atau membersihkan usus dari *Candida*. Sebagai obat topikal, baik terhadap kandidiasis kulit ataupun selaput lendir didapat hasil yang baik.

2) Klotrimasol

Pemberian topikal memberikan baik pada pengobatan kandidiasis kulit maupun selaput lendir.

3) Ekonasol

Pemberian topikal memberikan hasil baik pada kandidiasis kulit dan vaginitis.

4) Ketokonazol

Merupakan obat yang dapat dipakai untuk mengatasi infeksi sistemik, karena obat ini dapat diserap oleh usus dengan baik. Reaksi samping yang dapat timbul berupa gangguan fungsi alat pencernaan ringan dan rasa gatal bila diberikan dalam waktu yang lama.

2. Penanggulangan faktor predisposisi dan sumber infeksi

2.7 Antifungi

2.7.1 Pengertian Antifungi

Antifungi adalah suatu bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme fungi. Pemakaian bahan antifungi merupakan suatu usaha untuk mengendalikan jamur, yaitu segala kegiatan yang dapat menghambat, membasmi, atau menyingkirkan mikroorganisme. Tujuan utama pengendalian jamur untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi jamur pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan dan kerusakan oleh jamur (Pelczar dan Chan, 2005).

Ada beberapa hal yang harus dipenuhi oleh suatu bahan antifungi, seperti mampu mematikan mikroorganisme, mudah larut dan bersifat stabil, tidak bersifat racun bagi manusia dan hewan, tidak bergabung dengan bahan organik, efektif pada suhu kamar dan suhu tubuh, tidak menimbulkan karat dan warna, berkemampuan menghilangkan bau yang kurang sedap, murah dan mudah didapat (Pelczar dan Chan, 2005).

2.7.2 Mekanisme Kerja Antifungi

Zat antifungi dalam melakukan efeknya, harus dapat mempengaruhi bagian-bagian vital sel seperti membran sel, enzim-enzim dan protein struktural. Pelczar dan Chan (2005), menyatakan bahwa mekanisme kerja zat antifungi dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut:

1. Merusak Dinding Sel

Pada umumnya jamur memiliki suatu lapisan luar yang disebut dinding sel. Sintesis dinding sel ini melibatkan sejumlah langkah enzimatik yang banyak di antaranya dihalangi oleh antifungi. Rusaknya dinding sel jamur misalnya karena pemberian enzim lisosim atau hambatan pembentukannya oleh karena obat antifungi, dapat menyebabkan sel jamur lisis. Kerusakan dinding sel akan berakibat terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kematian sel karena dinding sel berfungsi sebagai pengatur pertukaran zat-zat dari luar dan ke dalam sel, serta memberi bentuk sel.

2. Mengubah Permeabilitas Membran Sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput yang disebut membran sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membran ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran sel berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar, melakukan pengangkutan zat-zat yang diperlukan aktif dan mengendalikan susunan dalam diri sel. Proses pengangkutan zat-zat yang diperlukan baik ke dalam maupun keluar sel dimungkinkan karena di dalam membran sel terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membran luar. Dengan rusaknya dinding sel, jamur secara otomatis akan berpengaruh pada membran sitoplasma, beberapa bahan antifungi seperti fenol, kresol, detergen dan beberapa antibiotik dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel, bahan-bahan ini akan menyerang dan merusak membran sel sehingga fungsi semi permeabilitas membrane mengalami kerusakan. Kerusakan pada membran sel ini akan mengakibatkan terhambatnya sel atau matinya sel.

3. Kerusakan Sitoplasma

Sitoplasma atau cairan sel terdiri atas 80% air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid, ion anorganik dan berbagai senyawa dengan bobot molekul rendah. Kehidupan suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Konsentrasi tinggi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi dan denaturasi komponen-komponen seluler yang vital.

4. Menghambat Kerja Enzim

Di dalam sel terdapat enzim dan protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam-logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lainnya umumnya efektif sebagai bahan antifungi pada konsentrasi relatif rendah. Logam-logam ini akan mengikat gugus enzim sulfhidril yang berakibat terhadap perubahan protein yang terbentuk. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

5. Menghambat Sintesis Asam Nukleat dan Protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan amat penting dalam sel, beberapa bahan antimikroba dalam bentuk antibiotik misalnya kloramfenikol, tetrasilin, prumysin menghambat sintesis protein. Sedangkan sintesis asam nukleat dapat dihambat oleh senyawa antibiotik misalnya mitosimin. Bila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

Menurut Sudjaswadi (2006), efektivitas senyawa antifungi dipengaruhi oleh karakter dinding sel atau membran sel dari jamur tersebut. Penetrasi obat melalui membran yang lebih cepat dan jumlah yang lebih besar segera menginisiasi efek menghambat reaksi sintesis protein dalam inti sel mikroorganisme.

2.8 Uji Antifungi

Uji senyawa antifungi adalah untuk mengetahui apakah suatu senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan mengukur respon pertumbuhan populasi jamur terhadap agen antifungi (Pratiwi, 2008). Beberapa metode uji antifungi di antaranya adalah metode dilusi dan metode difusi.

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam uji antifungi. Metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan jamur. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Metode lubang (sumuran) yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan jamur. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan jamur (Kusmiyati, 2007; Liana, 2010).

Pengujian dilakukan dengan mengukur zona hambatan yang berwarna bening pada gel. Menurut Davis dan Stout (1971) bila diameter daerah hambatan 5 mm atau kurang maka aktifitas penghambatannya dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-20 mm dikategorikan kuat, dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Sedangkan metode dilusi merupakan larutan uji diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi larutan uji ditambahkan suspensi jamur dalam media. Pada dilusi padat, tiap konsentrasi larutan uji dicampurkan ke dalam media agar. Setelah padat kemudian ditanami jamur (Hugo & Russel, 1987; Rahmawati, 2014). Prosedur uji dilusi digunakan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), yaitu konsentrasi terendah yang dapat membunuh jamur.

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)* (Syarif *et al*, 2001). Nilai MIC dapat ditentukan dengan metode penipisan (*dilution method*), yaitu dengan melakukan suatu seri pengenceran senyawa yang akan diuji di dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan jamur yang akan diperiksa dengan dosis tertentu. Lalu ditentukan batas atau dosis terkecil yang dapat menghambat tumbuhnya jamur, yang disebut MIC. Jamur dalam tabung yang tidak menunjukkan pertumbuhan dapat disubkultur dalam media tanpa senyawa uji untuk menentukan

apakah hambatan ini *reversible* atau permanen. Dengan cara ini dapat ditentukan pula nilai MBC (Sujudi, 1983, Rostinawati, 2007, Dewanjee *et al*, 2008).

2.9 Hubungan Antara Antioksidan dengan Antimikroba

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam tumbuhan memiliki kemampuan antioksidan. Menurut Izzati (2015) antioksidan adalah zat yang dapat mengikat radikal bebas yang berbahaya bagi kesehatan tubuh. Radikal bebas disebut juga dengan *unpair electron* atau oksidan. Radikal bebas atau oksidan tersebut sering kali menyebabkan kerusakan sel dan mengacaukan proses metabolisme sel sehingga dihasilkan sel-sel dengan kualitas buruk. Sebagian radikal bebas yang menempel pada dinding sel dan merusak mitokondria sel dapat menghasilkan sel-sel cacat yang cenderung menjadi sel kanker.

Sedangkan, mekanisme senyawa fenol (flavanoid) sebagai zat antimikroba adalah dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba. Komponen fenol juga dapat mendenaturasi enzim yang bertanggung jawab terhadap germinasi spora atau berpengaruh terhadap asam amino yang terlibat dalam proses germinasi. Flavonoid memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang luas dengan mengurangi kekebalan pada organisme sasaran (Naidu, 2000; Setyaningsih, 2009).

Kedua mekanisme ini saling berkaitan sebagaimana menurut Agnol *et al* (2003) melaporkan beberapa penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa secara potensial terdapat hubungan yang signifikan antara sistem biologi/organisme seperti virus, bakteri, dan molluska dengan beberapa enzim penghambat, antioksidan, dan zat anti radikal bebas.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental design* di laboratorium. Untuk menguji kadar antioksidan menggunakan variasi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm (Saman, 2013). Begitu pula untuk pembandingan (kontrol) berupa vitamin C, kemudian dihitung persen aktivitas antioksidannya dan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*) menggunakan *software GraphPad Prism 5*. Masing-masing ekstrak selanjutnya diuji aktivitas antifungi secara *in vitro* terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Pada masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama bulan Februari – Oktober 2015 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Laboratorium Genetika dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, dan Laboratorium Biomedik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini meliputi:

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dengan beberapa pelarut organik (etanol p.a, kloroform p.a, dan n-heksana p.a) dan dengan berbagai variasi konsentrasi.

3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai persen (%) aktivitas antioksidan dan nilai IC_{50} (*Inhibition concentration 50%*) untuk uji antioksidan. Sedangkan untuk uji antifungi adalah besar diameter zona hambat pada difusi cakram kertas (*paper disc*), tingkat kekeruhan yang dihasilkan pada media SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*) untuk Konsentrasi Hambat Minimal (KHM), dan jumlah koloni jamur yang dihasilkan pada media agar untuk Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM).

3.3.3 Variabel terkendali

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

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

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

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

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 kg simplisia kering rimpang tanaman jeringau (*Acorus calamus* L.), pelarut etanol p.a, kloroform p.a, n-heksana p.a 2,5 liter merk Merck[®], aquades steril, DPPH (1-1-difenil-2-pikrihidrazil), asam askorbat (vitamin C), alkohol 70%, spiritus, isolat (biakan murni) jamur *Candida albicans*, media SDA (*Sabouraud Dextrose*

Agar), SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*), aquades steril, tablet nystatin, standar Mc Farland 0,5, spirtus, kapas, kain kasa, emulsion fiyer (pelarut *tween* 80 %).

3.5 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel;
2. Penentuan nilai kadar air;
3. Ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi tunggal;
4. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH;
5. Uji aktivitas antifungi.

3.6 Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang dari tanaman jeringau (*Acorus calamus* L.) yang sudah berumur siap panen sekitar 6 bulan (1 tahun lebih baik). Tanaman ini didapatkan dan dideterminasi di UPT. *Materia Medica* Batu Jawa Timur Indonesia. Rujukan determinasi digunakan buku *FLORA* Van Steenis (2008). Determinasi dilakukan terhadap tanaman yang digunakan sebagai sampel untuk memastikan kebenaran simplisia dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.).

Proses pembuatan simplisia mulai dari panen, sortasi, penimbangan, pencucian, penirisan, perajangan, penjemuran, pengeringan dengan oven,

penggilingan sampai pada tahap pengemasan dilakukan oleh UPT. Materia Medica Batu. Sampel dicuci untuk menghilangkan kotoran yang berupa tanah atau debu yang dapat mengganggu dalam proses ekstraksi. Lalu sampel dikeringanginkan di bawah terik sinar matahari secara tidak langsung selama \pm 4 hari mulai jam 08.00 – 10.00 agar kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman tidak mengalami kerusakan.

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

Sampel rimpang jeringau (berwarna coklat kehijauan) dihaluskan menjadi serbuk dan halus bertujuan mendapatkan luas permukaan yang besar sehingga memudahkan kontak antara pelarut dan sampel pada saat melakukan ekstraksi. Sebagaimana telah dijelaskan bahwa semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya maka interaksi kontak pelarut dalam ekstraksi akan semakin besar, sehingga proses ekstraksi akan semakin efektif (Voight, 1994). Serbuk yang halus kemudian diayak dengan ayakan 80 mesh. Hal ini bertujuan untuk menyeragamkan ukuran sampel karena ukuran sampel yang seragam dan kecil menyebabkan pemecahan dinding sel oleh pelarut akan semakin cepat dan serentak, sehingga dapat memaksimalkan proses ekstraksi. Serbuk sampel yang telah seragam selanjutnya diekstraksi dengan beberapa pelarut organik yang berbeda sifat kepolarannya, antara lain etanol p.a (polar), kloroform p.a (semi polar), dan n-heksana (non polar).

3.6.2 Penentuan Nilai Kadar Air

Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui persen kadar air dalam sampel. Analisis kadar air dilakukan dengan metode pengeringan (*thermogravimetri*) (Legowo, 2007) dan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk memperoleh keakuratan data. Dalam penelitian ini menggunakan analisis kadar air kering dengan tahapan antara lain dikeringkan cawan porselen dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 menit, kemudian didiamkan pada cawan porselen selama 5 menit, selanjutnya dimasukkan ke dalam desikator selama 10 menit sampai diperoleh berat konstan. Setelah berat cawan kosong konstan, dimasukkan 5 gram serbuk sampel ke dalam cawan.

Dilakukan pengovenan setiap 30 menit bertujuan untuk menguapkan sisa-sisa air yang terdapat dalam sampel. Selanjutnya dilakukan pendinginan di dalam desikator selama 10 menit sampai diperoleh berat konstan yang menunjukkan kandungan air dalam sampel sudah teruapkan secara maksimal. Desikator dipompa vakum untuk mengkondisikan sampel agar terjaga kelembapan sampel dari suhu ruang. Dengan demikian akan diperoleh hasil yang lebih mencerminkan kadar air yang sebenarnya. Kemudian sampel tersebut ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat yang konstan. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali untuk memperoleh nilai rata-rata dari hasil kadar air yang diperoleh. Kadar air dihitung berdasarkan rumus (AOAC, 2005):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong
b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan
c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

3.6.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Menggunakan Metode Maserasi Tunggal dengan Variasi Pelarut

Ekstraksi dapat dianalogikan sebagai penarikan senyawa aktif suatu bahan oleh pelarut yang sesuai dan metode yang tepat sehingga hasil yang diinginkan dapat terekstrak sempurna. Ekstraksi didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Kelarutan suatu komponen tergantung pada derajat polaritas pelarut yang ditentukan oleh konstanta dielektrikum. Senyawa yang bersifat polar hanya dapat larut dalam pelarut polar, dan semi polar begitu juga sebaliknya senyawa non polar hanya dapat larut dalam pelarut non polar dan semi polar sebagaimana prinsip *like dissolves like* (Indah, 2010), artinya kelarutan akan terjadi bila memiliki sifat kepolaran yang sama. Dalam penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan beberapa pelarut organik, di antaranya adalah etanol p.a (polar), kloroform p.a. (semi polar), dan n-heksana p.a. (non polar). Dengan harapan memperoleh pelarut terbaik yaitu pelarut dapat mengekstrak dalam jumlah besar dan dapat mengekstrak golongan senyawa antioksidan yang mempunyai aktivitas tertinggi.

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang menggunakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang digunakan pada temperatur ruangan (Ferdiansyah, 2006). Metode maserasi dipilih karena metode ini murah dan mudah dilakukan. Ekstraksi tidak dilakukan dengan cara ekstraksi soxhlet karena dikhawatirkan dalam rimpang jeringau mengandung senyawa yang tidak tahan terhadap panas (alkaloid, flavonoid, triterpenoid). Menurut Voight (1994) proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan

perendaman, sampel tumbuhan akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut dapat melarutkan komponen dalam sel dengan melintasi membran sel ke dalam bagian sel. Dengan mengalirnya bahan pelarut ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak, dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Bahan kandungan tersebut berpindah secara osmosis melalui ruang antar rongga sel. Gaya yang bekerja adalah perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan pelarut yang mula-mula masih tanpa bahan aktif. Bahan kandungan sel akan mencapai ke dalam cairan di sebelah luar selama osmosis melintasi membran sampai terbentuknya suatu keseimbangan konsentrasi antara larutan di sebelah dalam dan di sebelah luar sel.

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

ditingkatkan apabila dibantu dengan pengadukan. Sehingga bahan dan pelarut dapat larut dengan sempurna.

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

Maserat (hasil maserasi) yang diperoleh kemudian disaring dengan corong *buchner vacuum* untuk mempercepat penyaringan. Selanjutnya filtrat hasil penyaringan atau pemisahan dipekatan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan titik didih yang telah disebutkan pada Tabel 2.3. Menurut Saman (2013) filtrat dievaporasi pada suhu sekitar 30-40 °C, suhu rendah digunakan untuk menjaga agar senyawa aktif tidak mengalami kerusakan. Proses evaporasi dihentikan sampai pelarut habis dengan ditandai tidak adanya penetes pelarut pada labu pelarut. Pemekatan dengan *rotary vacuum evaporator* menghasilkan pelarut yang digunakan saat maserasi dan didapatkan ekstrak kasar dengan warna dan tekstur yang berbeda seperti pada lampiran 2.5. Perbedaan warna dan tekstur ekstrak kasar mungkin disebabkan adanya perbedaan komponen yang terdapat dalam ekstrak kasar tersebut. Masing-masing ekstrak dihitung nilai rendemennya dengan persamaan (Husnah, 2009):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang digunakan}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

3.6.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) diukur dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil):

3.6.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pengujian aktivitas antioksidan secara *in vitro* ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana rimpang jeringau diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH pada rentang λ 400-700 nm. Menurut Prastiwati (2010) penetapan panjang gelombang maksimal bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan larutan DPPH untuk mencapai serapan maksimal.

Adapun langkah-langkahnya adalah etanol p.a dipipet sebanyak 4,5 mL kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,5 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh. Selanjutnya dicari λ_{maks} larutan menggunakan spektrofotometer UV *visible* dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.6.4.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan (*Operating Time*)

Langkah berikutnya yaitu optimalisasi waktu (*operating time*). *Operating Time* adalah waktu yang tepat untuk pembacaan serapan larutan yang diperiksa pada saat serapannya stabil pada kurva *operating time*. Sampel yang digunakan adalah yang berwarna sehingga dapat diketahui pada menit keberapa terjadi kestabilan. Menurut Prastiwati (2010), penentuan *operating time* dilakukan untuk

menentukan waktu paling tepat larutan uji ekstrak dalam meredam atau bereaksi dengan radikal bebas DPPH. Dalam penelitian ini dibuat larutan ekstrak 400 ppm (konsentrasi tertinggi) sebanyak 5 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,5 mL (3 : 1). Waktu kestabilan dicari setelah diinkubasi pada suhu 37 °C dan rentang waktu 5 – 120 menit dengan interval 5 menit. Sampel diukur menggunakan spektrometri UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya (Bariyyah, 2013). Hal ini ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil.

3.6.4.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

Cara pembuatan kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM diambil sebanyak 1,5 mL, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol p.a sebanyak 4,5. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya. Setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan menggunakan UV-Vis pada λ_{maks} yang didapatkan pada tahap sebelumnya (Barriyah, 2013).

Masing-masing ekstrak rimpang jeringau dari pelarut yang berbeda dilarutkan dalam etanol p.a dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm. Tiga tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing konsentrasi dari setiap ekstrak. Kemudian tiap-tiap tabung reaksi 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). Kemudian diamati perbedaan perubahan warnanya. Tingkat berkurangnya warna dari larutan menunjukkan efisiensi penangkap radikal. Setelah itu larutan ditutup dengan aluminium foil, diinkubasi dengan suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah didapatkan sebelumnya. Data absorbansi yang diperoleh dari masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya.

Aktivitas penangkap radikal bebas dihitung sebagai persentasi berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\begin{aligned} & \text{Aktivitas penangkapan radikal bebas (\%)} \\ & = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.3) \end{aligned}$$

Menurut Bios (1958) dalam Molyneux (2004), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC50 kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC50 50–100 ppm, sedang apabila nilai IC50 100–150 ppm, dan lemah bila nilai IC50 antara 150–200 ppm. Selanjutnya dibuat pembandingan (kontrol) berupa asam askorbat (vitamin C) diperlakukan sama seperti sampel, akan tetapi sampel diganti dengan larutan asam askorbat (vitamin C).

3.6.5 Uji Aktivitas Antifungi

Uji aktivitas antifungi dilakukan terhadap ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) meliputi:

3.6.5.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara membungkus semua peralatan dengan menggunakan kertas HVS, aluminium foil dan plastik. Kemudian dimasukkan dalam Autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 Psi (*Per Square Inchi*) selama 15 menit. Kecuali alat yang tidak tahan panas tinggi dapat disterilisasi dengan alkohol 70%.

3.6.5.2 Pembuatan Media

a. *Sabouraud Dextrose Broth* (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 pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Warsinah, 2011).

b. *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Prosedur pembuatan media SDA adalah ditimbang sebanyak 65 gram SDA, lalu dilarutkan dalam 1 liter air destilasi sampai didapatkan suspensi yang homogen dan dipanaskan selama 1 menit pada suhu 200° C. Kemudian suspensi disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Warsinah, 2011).

3.6.5.3 Regenerasi (Peremajaan) Jamur *C. albicans*

Dicairkan media SDA yang disimpan di dalam lemari pendingin. Kemudian dituang secukupnya ke dalam cawan petri steril dan ditunggu sampai memadat. Lalu diambil 1 ose jamur *C. albicans* dan di *straike* di atas media. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

3.6.5.4 Pembuatan Suspensi *C. albicans*

Inokulum *C. albicans* diambil $\frac{1}{2}$ ose, kemudian dimasukkan ke dalam 5 mL media SDB pada tabung, divortex sampai rata dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Hasil suspensi dibandingkan dengan standar Mc Farland 0,5 hingga diperoleh kekeruhan kurang lebih sama. Kemudian diukur kekeruhannya disamakan pada optical density = 0,120 – 0,15 dengan panjang gelombang 530 nm menggunakan spektrofotometer (Lee, 2010) dan jumlah sel yang digunakan disetarakan dengan 10^6 cfu/mL dengan berpedoman pada kurva standar.

3.6.5.5 Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak n-Heksana Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Terhadap *C. albicans*

a. Penentuan Diameter Zona Hambat

Metode pengujian ini dilakukan menggunakan metode difusi agar menggunakan kertas cakram steril (diameter 6 mm) (*Kirby Bauer method*). Masing-masing sampel ekstrak rimpang jeringau etanol p.a, kloroform p.a dan n-heksana p.a ditimbang sebanyak 0,1 gram di dalam botol flacon dan diencerkan

sampai 100 μL (0,1 mL) dengan pelarut etanol 70% (v/v) sebagai larutan uji konsentrasi 100%. Kemudian diaduk sampai larut dan dimasukkan 3 buah paper disk (kertas cakram), lalu direndam selama 30 menit.

Selanjutnya dimasukkan suspensi jamur yang telah ditumbuhkan pada media SDB sebanyak 100 μL ke dalam cawan petri steril, kemudian dituang media SDA yang masih cair (setelah dipanaskan menggunakan hotplate) sebanyak ± 10 ml ke dalam cawan petri secara *pour plate*, dan media dibiarkan hingga memadat. Lalu dibuat garis membagi tiga area untuk peletakan kertas cakram sesuai dengan ulangan sebanyak 3 kali. Dibuat kontrol positif dengan merendam kertas cakram pada *nystatin* (obat/pil antifungi). Sedangkan kontrol negatif menggunakan pelarut etanol 70%. Kontrol negatif ini digunakan untuk memastikan bahwa zona hambat yang dihasilkan tidak berasal dari pelarut.

Setelah 30 menit, kertas cakram tersebut diletakkan di atas permukaan media SDA yang telah dicampur dengan jamur *C. albicans* menggunakan pinset steril sambil ditekan sedikit. Perlu diingat bahwa sekali cakram sudah ditempelkan pada agar, tidak boleh digeser atau dipindahkan. Kemudian cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 3 x 24 jam pada suhu 37 °C. (Lutfiyanti, 2012). Semua cawan petri ditutup dengan plastik wrap dan dimasukkan inkubator dalam kondisi terbalik, agar embun hasil kondensasi tidak menetes di atas permukaan media. Setelah inkubasi diamati ada tidaknya zona bening di sekitar kertas cakram dan diukur lebar diameter daerah hambat dari zona yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Sehingga dapat ditentukan bahwa adanya daerah bening di sekeliling cakram kertas menunjukkan adanya aktivitas antifungi. Diameter zona

hambat dihasilkan dari diameter keseluruhan dikurangi diameter kertas cakram (6 mm) dan diameter hasil kontrol pelarut.

b. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM)

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

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

1) Penentuan Nilai KHM

Langkah awal penentuan nilai KHM adalah memberi nomor 1 s/d 10 pada tabung steril yang disediakan (Keterangan: tabung no. 1 = kontrol bahan, tabung no. 2- = larutan antifungi (ekstrak uji), dan tabung no. 11 = kontrol kuman). Kemudian dibuat larutan antifungi dari ekstrak dengan konsentrasi 100% (ditambah *emulsion fyer*). Lalu dimasukkan ekstrak sebanyak 200 μL di tabung no. 1 (Kontrol Bahan). Dimasukkan aquades sebanyak 100 μL pada tabung no. 2 sampai dengan tabung no. 10. Dicampur (divortex) hingga rata tabung no. 3, kemudian diambil dan dipindahkan sebanyak 100 μL ke dalam tabung 4. Selanjutnya dikerjakan hal yang sama terhadap tabung 5 s/d 9. Pada tabung no. 9, setelah tercampur merata larutan dibuang sebanyak 100 μL . Kemudian ditambahkan perbenihan cair kuman (jamur *Candida* 10^6 pada media SDB) sebanyak 100 μL ke dalam tabung 2-10. Dengan demikian volume masing-masing tabung menjadi 200 μL , sehingga konsentrasi akhir antifungi berubah. Lalu diinkubasi semua tabung pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Kemudian diperhatikan/dilihat dan dicatat pada tabung ke berapa tampak terjadi kekeruhan. Menurut (Rintiswati, 2004; Widyaningrum, 2015) KHM ditandai dengan jernihnya (tidak adanya kekeruhan) pada tabung (tabung yang jernih = positif KHM). Namun dikarenakan ekstrak rimpang jeringau bersifat keruh maka semua larutan uji di dalam tabung percobaan ditanam pada cawan petri yang sudah berisi media SDA.

2) Penentuan Nilai KBM

Pada tahap penentuan KBM dalam penelitian ini yaitu dari masing-masing tabung selanjutnya diambil satu ose dan diinokulasikan (*streaking*) dengan metode strike hitungan pada medium padat SDA. Kemudian medium SDA diinkubasi lagi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Keesokan harinya dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada setiap cawan dengan menggunakan *Colony Counter*. Disebut KBM jika pertumbuhan koloni kuman 0,1% dari jumlah koloni kontrol kuman (kuman mati sejumlah 99,9%). Hal ini sesuai menurut (Dzen *et al.*, 2003; Winarsih, 2011) bahwa nilai KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada medium SDA) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum/OI*) pada medium SDA yang telah dilakukan penggosresan sebanyak satu ose. Dwijayanti (2011) menyatakan bahwa cara mudahnya menentukan KBM yaitu terdapat pada konsentrasi terkecil yang sudah tidak terlihat lagi adanya pertumbuhan mikroba (dikatakan terbunuh/mati).

3.6.5.6 Penghitungan Koloni Jamur *C. albicans*

Setelah biakan diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu 37 °C lalu dilakukan pengamatan biakan jamur 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 (Khunaifi, 2010):

- 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 di mana jumlah koloninya diragukan, dihitung sebagai 1 koloni
- f. Satu koloni yang membentuk satu deretan atau rantai dan terlihat sebagai satu garis tebal dihitung sebagai 1 koloni
- g. Dari hasil penghitungan yang dilakukan, kemudian dihitung jumlah koloni per mL dengan bantuan *wolffugel disk* (kotak bantu hitung).

3.7 Analisis Data

3.7.1 Analisis Data Uji Antioksidan

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

3.7.2 Analisis Data Uji Antifungi

Data yang diperoleh pada uji aktivitas antifungi adalah konsentrasi ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.), hasil pengukur zona hambat, dan jumlah koloni jamur. Analisis data uji antifungi dengan dilusi didapat dengan melihat kekeruhan media secara visual dan dianalisis secara dengan deskriptif kualitatif. Nilai KHM dan KBM didapat dari hasil penegasan dengan metode *streak plate* (Dwijayanti, 2011).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Perhitungan Nilai Kadar Air Simplisia Jeringau

Serbuk simplisia kering rimpang jeringau (*Acorus calalampus* L.) belum diketahui nilai kadar airnya. Sehingga sebelum dilakukan uji aktivitas dari sampel tersebut maka dilakukan perhitungan nilai kadar air. Dikarenakan kadar air dalam bahan sangat mempengaruhi kualitas dan daya simpan dari pangan tersebut. Maka penentuan kadar air dari suatu bahan sangat penting agar dalam proses pengolahan maupun pendistribusian mendapat penanganan yang tepat.

Hasil perhitungan nilai kadar air simplisia kering rimpang jeringau disajikan pada Tabel 4.1 berikut ini:

Tabel 4.1 Kadar Air Sampel Kering Rimpang Jeringau

Nama Sampel	Ulangan	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
Rimpang jeringau	1	18,9%	19,9%
	2	20%	
	3	21%	

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air sampel kering rimpang jeringau sebesar 19,9%. Hal ini menunjukkan bahwa nilai kadar air dari simplisia kering rimpang jeringau cukup tinggi, dikarenakan di atas 12%. Sebagaimana menurut Badan POM (2002) dalam Ma'mun (2006) menyebutkan kadar air yang aman bagi suatu bahan kering adalah 10-12 %, agar proses ekstraksi dapat berjalan maksimal, dengan demikian penarikan senyawa aktif oleh pelarut tidak terhalang

air. Hal ini biasanya dipengaruhi oleh faktor habitat dari tanaman tersebut. Jeringau dengan kadar air tinggi dikarenakan menurut Pakasi dan Christina (2013) tanaman ini habitatnya di lingkungan basah seperti rawa dan selokan. Sedangkan hasil penelitian lain (Neha, 2012) dalam Effendi, (2014) melaporkan bahwa kadar air pada *chips* rimpang jeringau adalah 7,20%.

Semakin kecil nilai kadar air bahan kering maka semakin baik proses ekstraksi. Sebagian air harus dihilangkan dengan beberapa cara tergantung dari jenis bahan agar dapat memperpanjang masa simpan suatu bahan. Kadar air yang baik adalah kurang dari 10% karena pada kadar ini bahan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama sehingga kemungkinan rusak karena jamur sangat kecil. Penentuan kadar air selain bertujuan menyatakan kandungan zat dalam tumbuhan sebagai persen bahan kering dan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanan. Beberapa tanaman memiliki ketahanan berbeda terhadap penyimpanan (Harjadi, 1993). Jeringau berpotensi sebagai antibakteri dimungkinkan memiliki ketahanan penyimpanan yang lama meskipun kadar airnya tinggi. Namun lebih baik jika cepat segera digunakan dalam proses ekstraksi atau dengan cara disimpan tidak terlalu lama (tidak lebih dari 45 hari).

4.2 Hasil Nilai Rendeman dari Ekstrak Kasar Rimpang Jeringau

Setelah simplisia kering rimpang jeringau direndam dengan beberapa pelarut organik (metode maserasi), filtrat yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan pelarut yang digunakan saat maserasi dan didapatkan ekstrak kasar dengan warna dan tekstur

yang berbeda seperti pada Tabel 4.2. Perbedaan warna dan tekstur ekstrak kasar mungkin disebabkan adanya perbedaan komponen yang terdapat dalam ekstrak kasar tersebut.

Tabel 4.2 Warna, Tekstur dan Nilai Rendemen Ekstrak Kasar dari Masing-Masing Pelarut

No.	Pelarut	Warna Ekstrak	Tekstur Ekstrak Kasar	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%) (b/b)
1.	Etanol p.a	Cokelat kehijauan	Bubur	7,8	7,8
2.	Kloroform p.a	Cokelat kemerahan	Bubur	3,3	3,3
3.	<i>n</i> -heksana p.a	Cokelat kehitaman (tua)	Cairan pekat	2,4	2,4

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa ekstrak dengan pelarut etanol p.a memberikan hasil nilai rendemen ekstrak kasar rimpang jeringau yang paling berat (7,8 %). Berbeda halnya dengan ekstrak kloroform sebesar 3,3 % dan *n*-heksana 2,4 %. Hal ini disebabkan etanol p.a merupakan pelarut polar dan dimungkinkan dalam rimpang jeringau terkandung senyawa polar lebih tinggi daripada senyawa non polar. Seperti halnya dalam penelitian gandapura (Hermani, 2004), pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat dan heksana, ternyata hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut menunjukkan bahwa rendemen ekstrak tertinggi dihasilkan ekstrak metanol yang bersifat polar, diikuti oleh etil asetat bersifat semipolar dan heksan bersifat non polar.

Adapun perbedaan hasil warna dan tekstur dari ekstrak kasar disebabkan oleh pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Sebagaimana Husnah (2009) menyatakan bahwa data maserat dan rendemen tiap pelarut hasil penelitian menunjukkan warna, tekstur dan jumlah yang berbeda-beda. Perbedaan tersebut dimungkinkan karena adanya perbedaan kandungan kimia dalam rimpang jeringau yang berhasil diekstrak, dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda. Walaupun sampel yang diekstrak berasal dari bahan yang sama yaitu sama-sama dari rimpang jeringau akan tetapi hanya karena adanya perbedaan pelarut dapat menyebabkan beberapa perbedaan dari hasil data tersebut. Sesungguhnya yang demikian itu terdapat tanda-tanda kekuasaan akan ciptaan Allah ﷻ. Firman Allah ﷻ:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾

Artinya: "Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran." (QS. Al-Hijr: 19).

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

Setelah dilakukan perhitungan nilai kadar air dan nilai rendemen, selanjutnya dilakukan uji kandungan fitokimia secara kualitatif (Azzahra, 2015). Hasil dari uji fitokimia tersebut digunakan sebagai penguat data pada uji aktivitas antioksidan dan antifungi. Sehingga dapat diketahui senyawa golongan apa yang

berperan pada masing-masing ekstrak yang dihasilkan dari pelarut organik yang berbeda tingkat kepolarannya.

4.3 Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan Secara *In Vitro*

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak rimpang jeringau etanol p.a, kloroform p.a dan n-heksana p.a secara *in vitro* ditentukan dengan menggunakan metode DPPH. Penentuan potensi antioksidan sebagai penangkap radikal bebas diawali dengan mencari panjang gelombang maksimum DPPH pada rentang λ 400-700 nm. Hasil yang diperoleh yaitu DPPH 0,1 mM dalam etanol p.a memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 514,9 nm dengan absorbansi sebesar 0,228. Langkah berikutnya yaitu *operating time* (optimalisasi waktu). Berdasarkan hasil *operating time* diperoleh bahwa pengujian antioksidan akan sangat baik jika dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 95 menit untuk sampel uji dan 25 menit untuk pembanding vitamin C. Menurut Yuswantina (2011) inkubasi selama waktu yang didapat menunjukkan bahwa sampel yang mengandung antioksidan telah optimum dalam meredam radikal bebas DPPH. Hal ini ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil (Lampiran 3.2).

Penelitian ini menggunakan metode DPPH, dikarenakan menurut Prakash (2001) metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Metode DPPH digunakan karena memiliki

radikal bebas. Yang mana radikal DPPH adalah radikal bebas stabil yang menerima sebuah elektron hidrogen untuk diubah menjadi molekul diamagnetik.

Pada uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Menurut Molyneux (2004) nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai Absorbansi kontrol tetap dapat memberikan *baseline* untuk pengukuran saat itu. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan pengukuran absorbansi kontrol setiap melakukan pengukuran absorbansi sampel agar dapat mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Perubahan nilai absorbansi kontrol disajikan pada Lampiran 3.3.

4.3.1 Hasil % Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, ekstrak rimpang jeringau dengan beberapa pelarut dari berbagai variasi konsentrasi mengalami perubahan warna dari warna ungu menjadi kuning. Menurut Sunarni (2005) menyatakan bahwa suatu radikal sintetik yang stabil dalam larutan air atau metanol dan mampu menerima sebuah elektron atau radikal hidrogen untuk menjadi molekul diamagnetik yang stabil. DPPH pada uji ini ditangkap oleh antioksidan yang melepaskan hidrogen, sehingga membentuk DPPH tereduksi (DPP-Hidrazin).

Perubahan warna tersebut ditunjukkan pada: (a) ekstrak etanol p.a konsentrasi 400, 200, dan 100 ppm sebelum diinkubasi mengalami perubahan warna dan pada konsentrasi 50 dan 25 ppm mengalami perubahan warna setelah diinkubasi, (b) ekstrak kloroform p.a konsentrasi 400 dan 200 ppm sebelum diinkubasi mengalami perubahan warna dan pada konsentrasi 100, 50 dan 25 ppm mengalami perubahan warna setelah diinkubasi, (c) ekstrak n-heksana p.a pada semua konsentrasi belum mengalami perubahan warna sebelum diinkubasi dan mengalami perubahan warna setelah diinkubasi menjadi ungu muda, (d) pembanding vitamin C mengalami perubahan warna sebelum inkubasi terjadi pada semua konsentrasi berubah menjadi kuning muda dan setelah inkubasi berubah menjadi putih.

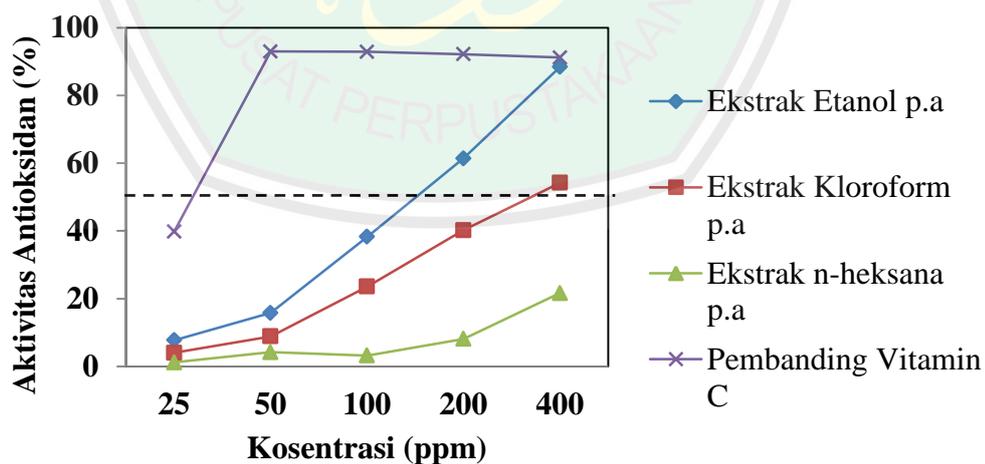
Secara umum semua konsentrasi dari ekstrak-ekstrak mengalami perubahan warna ungu menuju kuning setelah pengukuran absorbansi. Husnah (2009) menyatakan bahwa perubahan warna ungu menjadi kuning seiring dengan menurunnya absorptivitas molar dari molekul DPPH karena elektron yang tidak berpasangan dengan adanya pemberian atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H tereduksi. Perubahan warna secara stoikiometri berdasarkan jumlah elektron yang tertangkap. Aktivitas penangkapan radikal bebas atau antioksidan ditunjukkan dengan presentase (%) berkurangnya warna ungu dari DPPH.

Sebagaimana Wijaya (2012), aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan % peredaman atau penghambatan. Adapun data % peredaman dari ekstrak etanol p.a, kloroform p.a, heksana p.a. dan pembanding vitamin C setiap konsentrasi disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data % Aktivitas Antioksidan Tiap Ekstrak dan Pembanding Vitamin C Setiap Konsentrasi

(x) Konsentrasi (ppm)	(y) Aktivitas Antioksidan (% Peredaman)			
	Ekstrak Etanol p.a	Ekstrak Kloroform p.a	Ekstrak <i>n</i> -heksana p.a	Pembanding Vitamin C
25	7,73	4,03	1,17	39,85
50	15,80	8,87	4,18	93,02
100	38,29	23,59	3,22	92,91
200	61,40	40,19	8,12	92,18
400	88,43	54,19	21,65	91,20

Dari nilai % aktivitas antioksidan tiap ekstrak dan pembanding Vitamin C setiap konsentrasi (Tabel 4.3) dapat dibuat kurva sebagai berikut:



Gambar 4.1 Grafik Aktivitas Antioksidan (%) Ekstrak Rimpang Jeringau dengan Beberapa Pelarut dan Pembanding

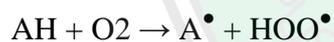
Gambar di atas menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar rimpang jeringau dengan beberapa pelarut organik yang berbeda memiliki pengaruh terhadap hasil antioksidan. Ekstrak etanol p.a efektif meredam 50% pada konsentrasi antara 100 ppm dan 200 ppm sehingga dikategorikan tergolong sedang. Ekstrak kloroform p.a mampu meredam antara 300 ppm dan 400 ppm sehingga tergolong lemah, dan ekstrak n-heksana p.a di atas 400 ppm artinya tidak memiliki aktifitas antioksidan. Sedangkan pada vitamin C sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan 50% pada konsentrasi antara 25 dan 50 ppm dapat dikategorikan sangat kuat.

Aktivitas penangkapan radikal bebas atau antioksidan dari semua ekstrak rata-rata belum konstan meskipun ada yang mengalami penurunan seperti pada ekstrak n-heksana dan vitamin C. Dikarenakan konsentrasi yang dipakai hanya sampai 400 ppm saja. Penentuan konsentrasi ini berdasarkan pada uji pendahuluan perubahan warna larutan DPPH setelah diberi ekstrak. Sehingga masih memungkinkan naik namun dalam penelitian ini konsentrasi tertinggi belum dapat diperoleh. Menurut Husnah (2009) hal ini berarti penangkapan radikal bebas masih efektif sampai konsentrasi tertinggi tersebut dan belum menjadi prooksidan (suatu zat dapat menyebabkan kerusakan oksidatif).

Dari hasil analisis regresi non linear juga didapatkan bahwa konsentrasi ekstrak masing-masing pelarut mempunyai hubungan searah yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya sampai pada konsentrasi tertentu menjadi cenderung konstan. Kurva regresi non linear disajikan pada Lampiran 3.3. Kurva regresi non linear pada lampiran

menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka aktivitas antioksidan juga semakin meningkat. Menurut Husnah (2009) walaupun terdapat hubungan searah antara konsentrasi ekstrak masing-masing pelarut terhadap aktivitas antioksidan, akan tetapi besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi.

Dengan penambahan jumlah konsentrasi yang semakin besar maka dapat memberikan pengaruh berlawanan arah yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin kecil aktivitas antioksidannya. Hal itu dibuktikan pada sampel pembanding vitamin C pada konsentrasi 100 ppm terjadi penurunan aktivitas secara signifikan karena sudah mencapai batas konsentrasi optimum. Gordon (1990) dalam Trilaksani (2003) memberikan gambaran terkait pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji. Berikut adalah gambar antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi:



Gambar 4.2 Antioksidan Bertindak Sebagai Prooksidan pada Konsentrasi Tinggi (Gordon, 1990; Trilaksani, 2003)

Besar 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 ﷻ dalam QS. Al-A'raf ayat 31:

﴿ يَبْنِيْٓ اٰدَمَ خُدُوْا زِيْنَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوْا وَاشْرَبُوْا وَلَا تُسْرِفُوْا ۗ اِنَّهٗ لَا يُحِبُّ

اَلْمُسْرِفِيْنَ ﴿

Artinya: “Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di Setiap (memasuki) mesjid, Makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.” (QS. Al-A'raf: 31)

Maksud dari ayat di atas adalah janganlah melampaui batas yang dibutuhkan oleh tubuh dan jangan pula melampaui batas-batas makanan meskipun itu diharamkan. Karena makanan yang berlebihan untuk tubuh itu tidak baik dan malah akan menimbulkan bahaya (suatu penyakit) tertentu.

4.3.2 Hasil Nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀)

Persen aktivitas antioksidan yang diperoleh tersebut selanjutnya dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi non linear untuk mengukur ada atau tidaknya korelasi (hubungan) antarvariabel pada *software* “*GraphPad Prism 5*”. Sehingga diperoleh nilai koefisien determinasi (R²) dan *inhibition concentration* (IC₅₀). Berikut nilai R² dan IC₅₀ ditunjukkan pada Tabel 4.4:

Tabel 4.4 Hasil Nilai Koefisien Determinasi (R²) dan IC₅₀ Ekstrak Serta Pembandingnya

No.	Sampel	Nilai R ²	IC ₅₀ (mg/L)	Keterangan
1.	Etanol p.a	0,9938	137,7	Sedang
2.	Kloroform p.a	0,9862	315,8	Lemah
3.	n-heksana p.a	0,9643	1011	Sangat Lemah/ Tidak Aktif
4.	Vitamin C	0,9172	27,71	Kuat

Hubungan tersebut ditunjukkan dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) yang menunjukkan kontribusi variabel x terhadap y, artinya variabel bebas x mempengaruhi variabel terikatnya y sebesar nilai R^2 . Misalnya nilai R^2 dari ekstrak rimpang jeringau etanol p.a 0,9938 maka konsentrasi ekstrak mempengaruhi persen aktivitas antioksidan sebesar 0,9938. Apabila terdapat variabel x yang lain, maka hanya memberikan kontribusi maksimal 0,0062.

Menurut Andarwulan (1996) *inhibition concentration* (IC_{50}) atau harga konsentrasi efisien/*efficient concentration* (EC_{50}) adalah parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan. Nilai ini merupakan konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50%. Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga IC_{50} atau EC_{50} yang rendah dan sebaliknya.

Dari Tabel 4.4 menunjukkan bahwa IC_{50} ekstrak etanol paling tinggi di antara ekstrak rimpang jeringau lainnya, yaitu sebesar 137,7 mg/L. Artinya dengan penambahan antioksidan dari ekstrak sebanyak 137,7 mg/L larutan uji, akan menangkap radikal bebas sebanyak 50% dari total radikal bebas. Hal ini juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol p.a rimpang jeringau mampu menangkap radikal dengan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak lainnya dalam jumlah radikal yang sama. Adapun nilai IC_{50} uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar rimpang jeringau dengan metode DPPH dari tertinggi ke terendah berturut-turut (etanol; 137,7 mg/L tergolong sedang), (kloroform; 315,8 mg/L tergolong lemah), dan (n-heksana; 1011 mg/L tergolong sangat lemah/tidak aktif).

Hal ini menunjukkan semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai antioksidan. 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). Akan tetapi jika melebihi batas konsentrasi optimum, maka senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan akan berubah menjadi prooksidan. Sehingga dalam hal ini penting diketahui berapa jumlah maupun konsentrasi yang dibutuhkan dalam meredam radikal bebas. Allah ﷻ mengatur segala hal dan menentukan kadar apapun yang ada di alam semesta ini. Semua telah tertata rapi dan memiliki fungsi masing-masing. Di dalam Al-Qur'an surat Al-A'laa ayat 3 Allah ﷻ berfirman:

وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ ﴿٣﴾

Artinya: “Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk.” (QS. Al-A'laa: 3).

Vitamin C dalam penelitian ini sebagai pembanding dan berdasarkan hasil uji memiliki daya antioksidan yang sangat kuat (27,71 mg/L). Sebagaimana menurut Endrini (2009) dalam Sandhiutami (2011) bahwa semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas. Hal ini menunjukkan bahwa sampel ekstrak rimpang jeringau dari semua pelarut memiliki efektivitas yang rendah sebagai aktivitas antioksidan dibandingkan dengan vitamin C.

Walaupun aktivitas antioksidan pada vitamin C lebih tinggi dari pada aktivitas antioksidan ekstrak rimpang jeringau, akan tetapi ekstrak rimpang jeringau dengan pelarut etanol p.a (polar) dapat digunakan untuk mengganti antioksidan sintetik. Dalam penelitian ini tidak memakai pembanding berupa antioksidan sintetik seperti BHT atau BHA dikarenakan terbukti karsinogenik. Purwati (2009) menyebutkan bahwa antioksidan sintetik seperti *Butyl Hidroksi Anisol* (BHA) dan *Butil Hidroksi Toluen* (BHT) saat ini penggunaannya mulai dibatasi. Hasil penelitian Ford.*et al* (1980); Indriati (2002) menunjukkan bahwa antioksidan sintetik seperti BHA dan BHT ternyata dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik, sehingga akan membahayakan bagi kesehatan.

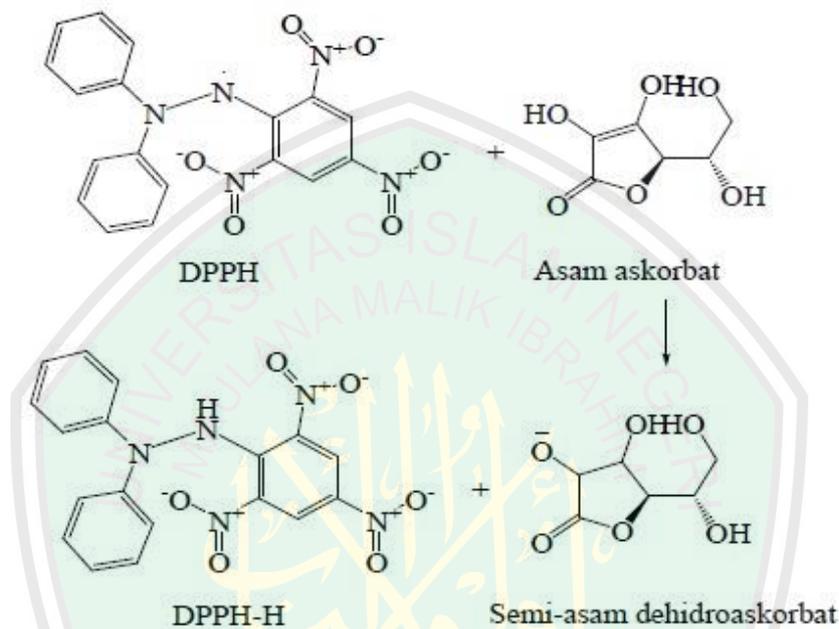
Ekstrak etanol p.a mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi diduga karena adanya kandungan senyawa aktif polar dari beberapa golongan senyawa antioksidan. Dari hasil uji fitokimia pada penelitian ini yang dilakukan oleh Azzahra (2015) membuktikan bahwa ekstrak rimpang jeringau etanol p.a mempunyai golongan senyawa antioksidan alkaloid dan triterpenoid, di mana golongan tersebut dapat berfungsi sebagai antioksidan dengan menyumbangkan atom hidrogennya pada radikal DPPH. Sehingga radikal DPPH menjadi DPPH-H yang diamagnetik karena adanya pasangan elektron. Dengan keadaan yang diamagnetik pada DPPH-H maka tidak menjadi radikal bebas lagi.

Begitu juga dengan ekstrak-ekstrak yang lain. Seperti halnya hasil dari penelitian ini yang telah dilakukan oleh Azzahra (2015) pada ekstrak rimpang jeringau kloroform p.a positif senyawa golongan triterpenoid dan untuk ekstrak

Sedangkan ekstrak rimpang jeringau n-heksana memiliki senyawa antioksidan paling rendah (dibuktikan dengan nilai IC_{50} terbesar), dikarenakan pelarut n-heksana merupakan pelarut non polar yang hanya akan dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder dalam simplisia berupa senyawa non polar. Menurut Harborne (1987) pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rimpang jeringau dari pelarut n-heksana diperoleh ekstrak berupa cairan pekat berwarna coklat kehitaman dan memiliki bau yang khas, wangi dan harum. Tekstur ini diduga disebabkan oleh minyak atsiri yang tertarik oleh pelarut n-heksana (non polar). Sebagaimana menurut literatur (Hartati, 2012^b) bahwa ekstrak n-heksana rimpang jeringau didapatkan kandungan minyak atsiri dan senyawa utama dari minyak atsiri rimpang *A. calamus* adalah β -asaron. Senyawa ini memiliki nama lain cis-2,4,5-trimethoxy-5(1-propenyl)benzene, yang mana menurut sifat kimianya terdapat adanya gugus ikatan rangkap C=C (*cis*), C-H aromatis, CH₂, CH₃, dan ikatan C-O yang biasa ditemukan pada senyawa golongan minyak, lipid maupun lemak beserta derivat (turunannya). Golongan ini memiliki aktivitas antioksidan lemah dibanding senyawa lainnya dikarenakan gugus alkil (CH) tidak memiliki kemampuan dalam memberikan donor hidrogen atau elektron serta dalam menangkap radikal bebas (*free radical scavengers*). Berbeda halnya dengan senyawa seperti golongan fenol, flavon dan senyawa metabolit sekunder bersifat polar lainnya. Ikatan gugus hidroksil yang dimiliki pada senyawa golongan polar berperan dalam mendonorkan hidrogen dan menangkap radikal bebas.

Adapun berdasarkan hasil yang diperoleh, pembanding vitamin C memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan ekstrak (Tabel 4.4). Berikut mekanisme aktivitas antioksidan vitamin C yang direaksikan dengan DPPH (Tumbas, 2007):



Gambar 4.4 Mekanisme Aktivitas Antioksidan Vitamin C yang Direaksikan dengan DPPH

Vitamin C dengan rantai rangkap gugus OH yang dimilikinya mampu menyumbang elektron secara resonansi. Sehingga meskipun vitamin C nanti menjadi radikal tetapi tetap netral karena sifatnya tidak reaktif (radikal yang stabil). Silalahi (2006) juga menyatakan bahwa vitamin C (L-asam askorbat) merupakan suatu antioksidan yang secara efektif menangkap radikal-radikal O_2^\bullet , OH^\bullet , ROO^\bullet , dan juga dapat memainkan peran dalam regenerasi teroksidasi vitamin E yang berinteraksi dengan radikal bebas untuk mencegah kerusakan sel. Menurut Choliso (2008) Vitamin C mudah mengalami oksidasi oleh radikal

bebas karena mempunyai ikatan rangkap dan dengan adanya 2 gugus-OH yang terikat pada ikatan rangkap tersebut, radikal bebas akan mencabut atom hidrogen dan menyebabkan muatan negatif pada atom oksigen yang selanjutnya akan didelokalisasi melalui resonansi, sehingga menghasilkan radikal bebas yang stabil dan tidak membahayakan. Senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan tersebut akan mempertahankan tipe sel sebagai penghalang tubuh terhadap infeksi dan membangun sistem kekebalan tubuh (imunitas). Senyawa spesifik yang belum diketahui dalam rimpang jeringau ini berperan dalam mekanisme tersebut yang nantinya berfungsi untuk membantu meningkatkan kesuburan pada wanita.

4.4 Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antifungi Secara *In Vitro*

4.4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat

Hasil pengukuran dari uji diameter zona hambat dengan metode kertas cakram (Kirby Bauer) dengan konsentrasi ekstrak 100% menunjukkan bahwa seluruh ekstrak rimpang jeringau yang diujikan memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Aktivitas penghambatan ini ditunjukkan dengan adanya zona bening (zona hambat) di sekitar kertas cakram. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak rimpang jeringau tiap perlakuan seperti disajikan pada Tabel 4.5 berikut ini:

Tabel 4.5 Rerata Diameter Daya Hambat Fungi Uji pada Tiap Perlakuan

No,	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)	Keterangan
1.	Jeringau etanol	3,72	Sedang
2.	Jeringau kloroform	2,22	Lemah
3.	Jeringau n-heksana	3,32	Sedang
4.	Kontrol Positif (Nystatin)	17,68	Kuat
5.	Kontrol Negatif (Etanol)	0,77	Lemah

Keterangan: Nilai diameter zona hambat di atas merupakan hasil pengurangan dengan diameter kertas cakram (6 mm) dan diameter zona hambat kontrol negatif (pelarut etanol 70%) (0,77 mm)

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antifungi di atas, perlakuan perbedaan pelarut ekstraksi memiliki pengaruh terhadap rerata diameter zona hambat fungi yang terbentuk. Ekstrak yang menghasilkan zona hambat dengan diameter ukuran terbesar adalah kontrol positif (nystatin) 17,68 mm dikarenakan nystatin sudah melewati berbagai tahapan proses uji dan senyawa aktif pada obat tersebut sudah spesifik, sehingga didapatkan efektivitas yang optimal.

Daya hambat ekstrak rimpang jeringau etanol (3,72 mm) dan jeringau n-heksana (3,32 mm) tergolong sedang mungkin dipengaruhi oleh kandungan fitokimia yang tertarik saat ekstraksi. Perbedaan pelarut ekstraksi merupakan faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi, khususnya senyawa fitokimia yang tertarik saat ekstraksi. Pada penelitian ini, uji fitokimia yang dilakukan oleh Azzahra (2015) menunjukkan bahwa ekstrak rimpang jeringau etanol p.a maupun ekstrak rimpang jeringau n-heksana p.a sama-sama positif mengandung senyawa golongan alkaloid dan triterpenoid. Meskipun hasil tersebut hanya secara

kualitatif dan belum diisolasi senyawa spesifiknya, namun dimungkinkan hasil pengukuran diameter zona hambat kedua ekstrak ini dipengaruhi oleh senyawa fitokimia yang terkandung di dalam kedua ekstrak. Sedangkan ekstrak rimpang jeringau kloroform diameter zona hambatnya terkecil (2,22 mm). dari hasil uji fitokimia hanya positif triterpenoid.

Adapun kategori sensitifitas dari pengukuran masing-masing diameter zona hambat masing-masing ekstrak antara lain:

Tabel 4.6 Kategori Penghambatan Antifungi Berdasarkan Diameter Zona Hambat

Diameter (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
0-3 mm	Lemah
3-6 mm	Sedang
> 6 mm	Kuat

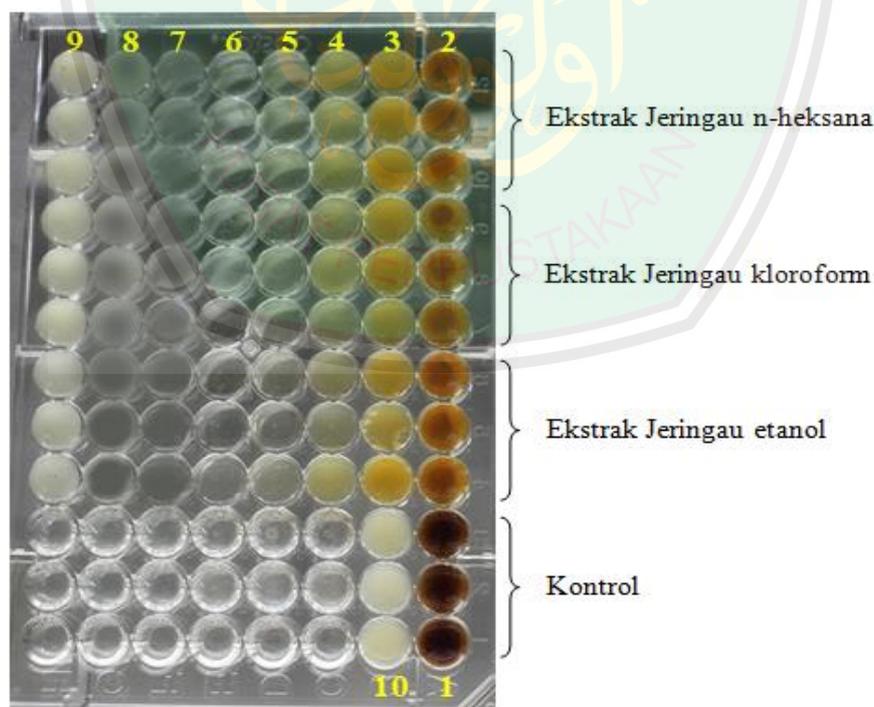
Sumber: Pan, Chen, Wu, Tang, and Zhao (2009)

Perbedaan senyawa bioaktif yang tertarik pada ekstrak etanol p.a, kloroform p.a dan n-heksana p.a tersebut akan mempengaruhi kemampuan menghambat sintesis polimer dinding sel maupun memecah membran sitoplasma sel *C. albicans*. Diperkirakan bahwa senyawa bioaktif dapat menghambat sintesis polimer dinding sel dengan menghambat kerja enzim sintase (1,3)- β glukon. Sebagaimana Zacchino *et al.* (2003) dalam Lutfiyanti (2012) menyatakan bahwa secara umum komponen utama dinding sel cendawan adalah (1,3)- β dan (1,6)- β glukon, khitin, dan manoprotein. (1,3)- β glukon sangat penting untuk pertumbuhan normal dan perkembangan cendawan karena polimerisasi (1,3)- β glukon dikatalisir dengan bantuan enzim sintase (1,3)- β glukon.

4.4.2 Hasil Pengamatan dari Penentuan KHM-KBM

Pada penelitian ini digunakan sepuluh macam konsentrasi ekstrak rimpang jeringau (Anggara, 2014) yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%, 0,78%, dan 0,39% serta konsentrasi 0% sebagai kontrol kuman (jamur) dan konsentrasi 100% sebagai kontrol negatif (kontrol bahan). Dzen *et al.* (2003); Winarsih (2011) menyatakan KHM (Kadar Hambat Minimal) adalah kadar terendah dari antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan pada jamur (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasi selama 18-24 jam.

Adapun tingkat kekeruhan larutan ekstrak rimpang jeringau hasil dilusi cair (pengenceran) dalam tabung *microplate* dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, kontrol jamur, dan kontrol bahan dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Metode Uji Dilusi Cair (Pengenceran)

Keterangan:

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

Dari hasil pengamatan, mulai konsentrasi 0,39%, 0,78%, 1,56%, dan 3.13% tidak tampak pertumbuhan mikroba uji yang ditunjukkan dengan media yang jernih. Secara visual dapat dilihat ekstrak rimpang jeringau dengan konsentrasi 0,39%, 0,78%, 1,56%, dan 3.13% memiliki kejernihan dibandingkan kontrol mikroba, maka dapat disimpulkan bahwa konsentrasi hambat minimum dari ekstrak rimpang jeringau berada pada konsentrasi 0,39%. Berikut tabel hasil pengamatan secara visual.

Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Secara Visual

No.	Sampel (Konsentrasi)	Kekeruhan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1	Kontrol Bahan (100%)	+++	+++	+++
2	50%	+++	+++	+++
3	25%	+++	+++	+++
4	12,5%	++	++	++
5	6,25%	+	+	+
6	3.13%	-	-	-
7	1,56%	-	-	-
8	0,78%	-	-	-
9	0,39%	-	-	-
10	Kontrol Mikroba (0%)	++	++	++

Keterangan: +++ : sangat keruh, ++ : keruh, + : agak keruh, - : jernih

Berdasarkan hasil uji dilusi tabung di atas diduga kekeruhan lebih dipengaruhi oleh warna ekstrak yang kecoklatan dan gelap, sehingga dalam pengamatan langsung secara visual tingkat kekeruhan tiap konsentrasi masih ada keraguan. Begitu pula dengan menggunakan metode *turbidimetri*, yakni mengukur nilai *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer tidak dapat dilakukan karena syarat dari spektrofotometer sendiri adalah harus transparan atau tidak ada bahan pengganggu lain.

Oleh karena itu penentuan KHM pada penelitian ini dilakukan dengan metode *streak plate* dari hasil uji dilusi cair sebagai penegasan agar hasil yang diperoleh lebih valid. Sampel uji yang digunakan adalah semua tabung, diambil satu ose dan digoreskan pada permukaan media SDA secara merata kemudian diinkubasi lagi. Hasil penggoresan/*streaking* pada media SDA dapat dilihat pada Lampiran 5.5.3.

Dari hasil pertumbuhan dan penghitungan koloni isolat jamur *C. albicans* tersebut dapat ditentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) maupun Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak rimpang jeringau. KHM adalah konsentrasi terkecil yang dapat menghambat mikroba, ditandai dengan *C. albicans* masih dapat tumbuh pada hasil *streak plate*. Sedangkan KBM adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh mikroba, ditandai dengan *C. albicans* sudah tidak dapat tumbuh pada hasil *streak plate* yang menandakan mikroba uji mati karena larutan uji dengan konsentrasi tersebut (McKane & Kandel, 1996; Koneman, Allen & Schreckenbergr, 1997). Hasil penelitian menunjukkan KHM terdapat pada masing-masing ekstrak rimpang jeringau adalah konsentrasi 0,39%.

Dikarenakan konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat jamur *C. albicans*, ditandai dengan *C. albicans* masih dapat tumbuh setelah dilakukan *streak plate* dan dihitung dengan menggunakan *colony counter*. Sedangkan KBM ekstrak rimpang jeringau masing-masing perlakuan didapatkan pada konsentrasi 0,78%. Sebagaimana menurut Dwijayanti (2011) KBM terdapat pada konsentrasi terkecil yang sudah tidak terlihat lagi adanya pertumbuhan mikroba (mati). Maka, disimpulkan bahwa KBM dari sampel uji tersebut adalah 0,78%. Hasil penghitungan koloni yang tumbuh di media SDA dari masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Hasil Penghitungan Koloni Jamur yang Tumbuh pada SDA

Sampel Uji	Hasil Penghitungan Koloni (CFU/mL)			Keterangan KHM-KBM		
	Jeringau Etanol	Jeringau Kloroform	Jeringau n-heksana	Jeringau Etanol	Jeringau Kloroform	Jeringau n-heksana
Kontrol Mikroba	123 x 10 ⁹	123 x 10 ⁹	123 x 10 ⁹			
0,39%	55 x 10 ⁶	40 x 10 ⁶	186 x 10 ⁵	KHM	KHM	KHM
0,78%	0	0	0	KBM	KBM	KBM
1,56%	0	0	0			
3,13%	0	0	0			
6,25%	0	0	0			
12,50%	0	0	0			
25.00%	0	0	0			
50.00%	0	0	0			
Kontrol Bahan	0	0	0			

Berdasarkan hasil uji antifungi dalam penelitian ini, diduga semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin besar pula konsentrasi bahan aktif yang berpengaruh terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Sehingga pertumbuhan *C. albicans* menjadi semakin sedikit dan sampai tidak ada (mati). Pada penelitian

lain (Azizah, 2013) melakukan penelitian terhadap khasiat ekstrak etanol rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) sebagai anti jamur *C. albicans* menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang jeringau mempunyai daya antijamur terhadap *C. albicans* dengan kadar bunuh minimal (KBM) 0,25% (b/v).

Senyawa yang terkandung dalam rimpang jeringau berdasarkan hasil uji fitokimia pada penelitian ini yang dilakukan oleh Azzahra (2015) yaitu ekstrak rimpang jeringau etanol p.a positif mengandung senyawa golongan alkaloid dan triterpenoid. Sedangkan ekstrak rimpang jeringau kloroform p.a hanya positif triterpenoid dan untuk ekstrak rimpang jeringau n-heksana p.a sama dengan hasil uji pada ekstrak etanol p.a yaitu positif alkaloid dan triterpenoid. Hal ini diduga bahwa senyawa senyawa alkaloid maupun triterpenoid memiliki peran terhadap aktivitas antifungi dari ekstrak rimpang jeringau terhadap jamur *C. albicans*. Harborne (1987) menyatakan bahwa alkaloid merupakan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Rahayu (2009) menambahkan bahwa alkaloid memiliki sifat basa $\text{pH} > 7$ dan pahit. Sifat basa ini kemungkinan akan menekan pertumbuhan jamur *C. albicans*, karena jamur tersebut tumbuh pada pH 4,5 – 6,5.

Selain itu, kandungan rimpang jeringau diduga seperti pada hasil penelitian Saman (2013) tentang isolasi dan karakterisasi senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol rimpang jeringau didapatkan hasil uji fitokimia menunjukkan rimpang jeringau positif mengandung senyawa berupa flavonoid, steroid, saponin, dan terpenoid. Menurut Melderer (2002) aktivitas biologis

senyawa flavonoid dapat merusak dinding sel dari *C. albicans* yang terdiri atas lipid dan asam amino. Susunan dinding sel ini akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel jamur. Selanjutnya melalui inti sel jamur senyawa ini akan kontak dengan DNA pada inti sel jamur *C. albicans*. Perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid akan dapat terjadi reaksi, sehingga akan merusak struktur lipid dari DNA jamur *C. albicans* mengakibatkan inti sel jamur juga akan lisis.

Flavonoid diketahui telah disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba sehingga tidak mengherankan kalau senyawa ini efektif secara *in vitro* terhadap sejumlah mikroorganisme. Aktivitasnya kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel. Flavonoid yang bersifat lipofilik mungkin juga akan merusak membran mikroba. Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional (Melderer, 2002). Flavonoid dapat membentuk kompleks dengan dinding sel mikroba. Semakin lipofilik suatu flavonoid, kemampuannya dalam merusak dinding sel mikroba semakin kuat (Cowan, 1999).

Namun dalam penelitian uji aktivitas antifungi ini, ekstrak n-heksana p.a memperlihatkan adanya aktivitas terhadap jamur *C. albicans* lebih besar dibanding ekstrak etanol p.a dan kloroform p.a. Dibuktikan dengan jumlah koloni yang masih tumbuh lebih sedikit daripada ekstrak rimpang jeringau yang lain

(Tabel 4.8). Menurut Azizah (2013) senyawa α -asarone dan β -asarone dari minyak atsiri rimpang jeringau diduga kuat mempunyai aktivitas antijamur. Sehingga besar kemungkinan kadar senyawa minyak atsiri yang tertarik saat proses ekstraksi lebih banyak dengan pelarut n-heksana p.a dikarenakan sama-sama bersifat non polar. Dibuktikan dengan hasil tekstur ekstrak kasar n-heksana p.a lebih cair dari pada tekstur ekstrak etanol p.a dan kloroform p.a (Tabel 4.2). Berbeda halnya dengan pelarut etanol p.a memiliki sifat polar dan kloroform p.a bersifat semi polar, sehingga diperoleh kadar minyak atsiri yang tertarik lebih sedikit. Oleh karena itu, daya aktivitas antifunginya pun lebih kecil dibanding ekstrak n-heksana p.a. Hasil tersebut menunjukkan senyawa yang terkandung dalam rimpang jeringau memiliki aktivitas yang berbeda. Sehingga perlu adanya uji lebih lanjut terkait aktivitas senyawa yang dihasilkan oleh rimpang jeringau untuk mendukung peranannya sebagai kandidat jamu subur kandungan.

Sungguh Maha Kuasa Allah ﷻ dengan segala ciptaan-Nya yang ada di bumi termasuk juga segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik telah disebutkan dalam QS. Luqman: 10 berikut ini:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوْسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ

وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya: “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.” (QS. Luqman: 10)

Allah ﷻ menurunkan hujan dari langit. Hujan itu berasal dari awan yang dihalau Nya ke suatu tempat tertentu, kemudian berubah menjadi hujan yang membasahi permukaan bumi. Dengan air hujan itu tumbuhlah segala macam tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam, dengan warna yang indah dan manfaat yang banyak. Tentu semua ini diciptakan untuk makhluk-Nya baik manusia maupun binatang-binatang. Allah ﷻ juga menunjukkan kekuasaan-Nya di ayat lain tentang menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik, yakni di dalam Q.S Asy-Syu'araa' ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: *“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”* (Q.S Asy-Syu'araa': 7).

Kalimat tanya Allah pada makhluk-Nya yang bermaksud perintah pada ayat tersebut agar hamba-Nya mendalami dan mencari hikmah di setiap ciptaan-Nya yang ada di bumi, khususnya tumbuhan. Adapun salah satu di antara hikmah penciptaan tumbuhan adalah untuk obat, karena setiap penyakit ada obatnya.

Sebagaimana Rasulullah ﷺ bersabda:

“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.” (HR. Ahmad 1/377, 413 dan 453).

Janji Rasulullah ﷺ ini pasti benar bahwa segala penyakit pasti ada obatnya. Namun manusia sebagai makhluk berakal haruslah berupaya mencarinya serta berfikir bagi kaum berakal (Yaasiin: 68, Asy-Syu'araa': 28, Al Baqarah: 219, Al

A'raaf: 176, Ar Ra'd: 4, Ar Ruum: 21, Az Zumar: 42, Al Mu'min: 54, Al Hasyr: 21). Sebagai hamba yang diberi anugerah akal, maka sudah sepatutnya digunakan untuk berfikir. Salah satunya obat atas segala penyakit harus dicari karena meskipun Allah ﷻ adalah *asy-Syaafi* (Yang Maha Penyembuh), tidak ada kesembuhan kecuali kesembuhan dari-Nya serta mampu menghilangkan sesuatu yang menyakiti atau merusak pada badan manusia. Namun, Allah ﷻ akan menyembuhkan makhluk-Nya melalui *sunnatullah* di antaranya dengan mencari sarana kesembuhan yaitu obat. Sebagaimana firman-Nya dalam QS. Ar-Ra'd ayat 11:

إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ .

Artinya: “.... *Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri....*” (QS. Ar-Ra'd: 11).

Ayat di atas bermakna bahwa Allah ﷻ tidak akan merubah keadaan suatu kaum, selama mereka tidak merubah sebab-sebab nasib dari kaum itu sendiri. Oleh karena itu hukum sebab-akibat berlaku di bidang apapun. Sehingga sebagai manusia yang beriman harus berusaha dengan penuh keyakinan, karena sarana yang Allah ﷻ berikan sudah lengkap sebagai bukti dan tanda-tanda kekuasaan-Nya. Sebagaimana firman Allah ﷻ dalam QS. Adz-Dzariyaat ayat 20:

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِّلْمُوقِنِينَ

Artinya: “*Dan di bumi itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang yakin.*” (QS. Adz-Dzariyaat: 20).

Tidak ada dzat selain Dia yang mampu menciptakan dan mengatur alam semesta ini. Dikarenakan pengetahuan Allah ﷻ meliputi semua wujud alam ini, baik yang ada di daratan maupun yang ada di lautan, tidak ada sesuatu pun darinya yang samar, dan tidak ada yang samar bagi Allah ﷻ sebesar *zarrah* (atom) pun di bumi ini, tidak pula yang di langit.

﴿ وَعِنْدَهُ مَفَاتِحُ الْغَيْبِ لَا يَعْلَمُهَا إِلَّا هُوَ وَيَعْلَمُ مَا فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ وَمَا تَسْقُطُ مِنْ وَرَقَةٍ ۝

إِلَّا يَعْلَمُهَا وَلَا حَبَّةٍ فِي ظُلْمَتِ الْأَرْضِ وَلَا رَطْبٍ وَلَا يَابِسٍ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ﴿٥٩﴾

Artinya: “Dan pada sisi Allah-lah kunci-kunci semua yang ghaib; tidak ada yang mengetahuinya kecuali Dia sendiri, dan Dia mengetahui apa yang di daratan dan di lautan, dan tiada sehelai daun pun yang gugur melainkan Dia mengetahuinya (pula), dan tidak jatuh sebutir biji-pun dalam kegelapan bumi, dan tidak sesuatu yang basah atau yang kering, melainkan tertulis dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfudz)” (QS. Al-An’am: 59).

Allah ﷻ mengetahui segala macam hal yang gaib. Tidak ada yang mengetahui hal itu kecuali diri-Nya dan orang yang Dia beritahu sebagian ilmu-Nya. Pengetahuan-Nya meliputi segala sesuatu yang ada di darat dan di laut. Daun-daun apa saja yang jatuh, biji-bijian yang jatuh di perut bumi, atau sesuatu yang basah dan yang kering, semuanya diketahui oleh Allah ﷻ dengan sempurna. Maka manusia hanya ditugaskan yakin dan terus berupaya memanfaatkan serta menggali potensi alam ini untuk kemaslahatan bersama sebagai wujud rasa sukur kepada-Nya.

Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan oleh Azzahra (2015) diketahui beberapa bahan aktif yang terkandung di dalam rimpang jeringau. Dari proses ekstraksi beberapa pelarut organik yang berbeda tingkat kepolarannya, maka didapatkan senyawa yang berbeda pula. Setiap senyawa yang diperoleh mempunyai kinerja dan fungsi masing-masing. Sehingga hasil dari uji antioksidan maupun antifungi pada penelitian ini juga berbeda. Harapannya dari hasil penelitian ini mampu diaplikasikan sesuai tujuannya, saling mendukung untuk obat alternatif subur kandungan (meningkatkan fertilitas) pada wanita.

Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi berperan menjaga kondisi sel akibat pengaruh radikal bebas baik berasal dari dalam tubuh (endogen) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) maupun yang berasal dari luar. Sedangkan senyawa antifungi yang kuat dapat mengubah pH lingkungan inang dari asam ke basa (jamur *C. albicans* tumbuh pada pH 4,5 – 6,5) serta mensekresikan zat yang dapat membunuh jamur penyebab infertilitas. Penelitian ini hanya merupakan upaya kecil dari tangan manusia, karena kebenaran mutlak hanyalah milik Allah ﷻ.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kasar rimpang jeringau dengan beberapa pelarut organik memiliki pengaruh terhadap hasil antioksidan. Hasil nilai IC_{50} uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar rimpang jeringau dengan metode DPPH dari tertinggi ke terendah berturut-turut (etanol; 137,7 mg/L tergolong sedang), (kloroform; 315,8 mg/L tergolong lemah), dan (n-heksana; 1011 mg/L tergolong sangat lemah/tidak aktif).
2. Ekstrak kasar rimpang jeringau dengan beberapa pelarut organik memiliki pengaruh terhadap rerata diameter zona hambat *Candida albicans* yang terbentuk. Zona hambat dengan diameter dari ukuran terbesar sampai terkecil secara berurutan adalah kontrol positif (nystatin) 17,68 mm (kuat), jeringau etanol 3,72 mm (sedang), jeringau n-heksana 3,32 mm (sedang), jeringau kloroform 2,2 mm (lemah) dan kontrol negatif (pelarut etanol 70%) 0,77 mm (lemah). Adapun nilai KHM terdapat pada masing-masing ekstrak rimpang jeringau konsentrasi 0,39%. Dan nilai KBM ekstrak rimpang jeringau masing-masing perlakuan didapatkan pada konsentrasi 0,78%.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini antara lain:

1. Sebaiknya untuk penelitian selanjutnya semua pengukuran uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV *visible* baik pada saat *operating time* maupun pengukuran untuk mencari % peredaman.
2. Uji diameter zona hambat antifungi sebaiknya dilakukan pada berbagai konsentrasi ekstrak dengan mengacu pada uji pendahuluan atau jurnal terkait.
3. Dilakukan uji lanjut yaitu konsentrasi uji KHM-KBM diperkecil lagi di bawah konsentrasi 0,39 %.
4. Penelitian tahap awal secara *in vitro* ini dapat dilanjutkan ke tahap penelitian secara *in vivo* pada hewan coba.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2007. *Lubaabut Tafsir Min Ibni Katsir Jilid 5*, Penerjemah M. Abdul Ghafur dan Abu Ihsan al-Astsari. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Agnol, R., Ferraz A., Bernardi A. P., Albring D., Nor C., Sarmiento L., Lamb L., and Hass M. 2003. Antimicrobial Activity of Some Hypericum Species. *Journal of Phytomedicine*. 10: 141-147.
- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: Penerbit ITB.
- Agustini. 2013. *Keputihan: Si Putih yang Mengganggu*. www.medikaholistik.com/ Diakses pada tanggal 29 April 2015 pukul 09:36 WIB.
- Al Maragi, A. M. 1992. *Terjemah Tafsir Al Maraghi*. Semarang: CV. Toha Putra.
- Al Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Qur'an Al Qurthubi (Edisi Terjemahan)*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Anggara, E. D., Dwi S. dan A. Mursyidi. 2014. *Uji Aktivitas Antifungi Fraksi Etanol Infusa Daun Kepel (Stelechocarpus burahol, Hook F&Th.) Terhadap Candida albicans*. Yogyakarta: Pasca Sarjana Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Anisah, S. K., Ari H. Y. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jeringau (Acorus calamus L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Protobiont*. 3 (3): 1. [Antiox_acti.pdf](#).
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Ed ke-18. Washington DC: Assosiation of Official Analytical Chemistry.
- Aprilia. 2015. *Penyebab Infertilitas Wanita*. <http://sweetspearls.com/obatherbal/> Diakses pada tanggal 20 Mei 2015 pukul 10:40 WIB.
- Ardiansyah. 2011. *Antioksidan dan Peranannya Terhadap Kesehatan*. Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Bakrie.
- Ariningsih, R. I. 2009. Isolasi Streptomyces dari Rizosfer Familia Poaceae yang Berpotensi Menghasilkan Antijamur Terhadap *Candida albicans*. *SKRIPSI*. Fakultas Farmasi Niversitas Muhammadiyah Surakarta.
- Arinta, A. dan Joni K. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Gambir (Uncaria gambir) Metode Microwave-assisted Extraction Terhadap Bakteri Patogen*. Malang: Universitas Brawijaya.

- Arnelia. 2006. *Fitokimia Komponen Ajaib Cegah PJK, DM, Kanker*. <http://www.kimianet.lipi.go.id>.
- Arsianti, A. dan Yusnetti B. 2008. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa yang Terdapat dalam Kulit Buah Kandis (Garcinia parvifolia)* <http://repository.ui.ac.id/contents/koleksi/16/daf80fe17cc54e5d97a115a5c6405980041e0cf4.pdf>.
- Azizah, L. N. dan Elisa K.. 2013. *Khasiat Ekstrak Etanol Rimpang Dlingo (Acorus calamus L.) Sebagai Anti Jamur Candida albicans*. Berkala Ilmiah Mahasiswa S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Azzahra, V. L. 2015. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.), Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*), Umbi Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Ramuannya. *SKRIPSI*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Bakar, Abu. 2007. Etnobotani Berbagai Tumbuhan Obat di Kabupaten Sumenep Madura yang Berhubungan dengan Masalah Reproduksi. *SKRIPSI*. Jurusan Biologi Fakultas Saintek UIN Malang.
- Bariyyah, S. K., A. G. Fasya, Munirul A, A. Hanapi. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella sp.* Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge. *Journal of Chemistry "ALCHEMY"*. 2 (3): 198.
- Basri, S. 1996. *Kamus Kimia*. Jakarta: Penerbit Rineka Cipta.
- Bernasconi, G. 1995. *Teknologi Kimia 2*. Penerjemah: Handojo L. Jakarta: PT. Prandya Paramitha.
- Cholisoh, Zakky dan Wahyu U. 2008. Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Ethanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Jurnal Pharmacon*. 9 (1): 33-40.
- Cowan, M. M. 1999. Clinical Microbiology Reviews-Plant Products Antimicrobial Agent. *Ohio Department of Microbiology, Miami University*. 4 (2): 564-582 (<http://smccd.net/accounts/case/ref/564.pdf>).
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia Univ. Press.
- Damar, Alpha C., Max R. J. R., dan Defny S. W. 2014. Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Daun Kayu Kapur (*Melanolepsis multiglandulosa* Reinch f). *Jurnal Pharmacon*. 3 (4): 18.
- Davis, W. W. and T. R. Stout. 1971. Disc Plate Methode of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiol*. 22: 659-665.

- Day, J., Underwood. 1998. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Delosantos, M. R. 2012. The Use of Traditional Chinese Medicine as an Adjunct to Western Fertility Treatments for the Management of Female Infertility. *Theses, Dissertations and Capstone Projects*. A Clinical Graduate Project Submitted to the Faculty of the School of Physician Assistant Studies Pacific University Oregon, AS.
- Depkes RI. 2006. *Profil Kesehatan Indonesia 2005*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 8-9, 11-12.
- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *SKRIPSI*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Dewoto, H. R. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 57 (7): 206.
- Due, Rufina. 2013. Etnobotani Tumbuhan Obat Suku Dayak Pesaguan dan Implementasinya dalam Pembuatan Flash Card Biodiversitas. *Artikel penelitian. Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan PMIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tanjungpura Pontianak*.
- Dwijayanti, K. R. 2011. Daya Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Bl.) Terhadap *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *SKRIPSI*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Effendi, Violetta P. dan Simon B. W. 2014. Distilasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) dengan Kajian Lama Waktu Distilasi dan Rasio Bahan : Pelarut. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2): 7.
- Eskin, N. A. M., Przybylski, R. 2004. *Antioxidants and Shelf Life of Foods*. New York: CRC Press.
- Ferdiansyah, I. A. 2006. *Ekstraksi Daun Mindi (Melia Adedarach Linn) Kering Secara Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 90%*. Malang: FTP Universitas Brawijaya.
- Frobisher and Fuerst's. 1983. *Microbiology in Health and Diseases, 15th Edition*. International Edition. Hal. 566-567.

- Gritter, R. J., Bobbitt, J. M., and Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi. (Introduction to Chromatography)*, Translated by Kosasih Padmawinata, Second Edition. Bandung: ITB Press.
- Guenther, E., diterjemahkan oleh S. Ketaren. 2006. *Minyak Atsiri Jilid IV A*. Jakarta: UI Press.
- HAM, Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Hamilton, R. J. 1994. *The Chemistry Of Rancidity in Food*. London: Applied Science Publishers.
- Hanani, E., A. Mun'im dan R. Sekarini 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia sp.* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2: 127-133.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi II. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Harjadi W. 1993. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Hartanto, Francisca Triani Wulandari. 2014. Perbandingan Daya Antijamur Minyak Atsiri Rimpang Kering Dringo (*Acorus calamus Linn*) yang Didapat dengan Cara Destilasi dan Ekstraksi n-Heksan terhadap jamur *Candida albicans* Serta Profil KLT Spektro. *SKRIPSI*. Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.
- Hartati, S. 2012^a. Prospek Pengembangan Minyak Atsiri Sebagai Pestisida Nabati. *Jurnal Perspektif*. 11 (1): 46.
- Hartati, S., Atiek S. dan Eka I. A. 2012^b. Isolasi β -asaron dari Rimpang Dringo (*Acorus calamus Linn.*) Serta Uji Aktivitas Antimikroba. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 8 (2): 85.
- Haryanto, S. 2010. *Ensklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta: Palmall.
- Hasnah, Husni, dan Ade F. 2012. Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) Terhadap Mortalitas Ulat Grayak *Spodoptera litura* F. *J. Floratek* 7: 115 – 124.
- Heath, J. B., Reinessius, G. 1987. *Flavor Chemistry and Technology*. New York: Van Nostrand Reinhold Co.
- Hendrajaya, K. dan Dini K. 2003. Skrining Fitokimia Limbah Rimpang *Acorus calamus L.* yang Telah Terdestilasi Minyak Atsirinya. *Proseding Seminar dan Pameran Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII*. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jakarta.

- Hermani. 2004. *Gandapura: Pengolahan, Fitokimia, Minyak Atsiri dan Daya Herbisida*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Buletin TRO. 15 (2).
- Hirasawa, M., N. Shoujii, T. Neta, K. Fukushima, and K. Takada. 1999. The Kinds of Antibacterial Substances from *Lentinus adobes* Singshitake an Edible Mushroom. *International Journal of Antibacterial Agents*. 11, 1561-157.
- Husnah, M. 2009. Golongan Senyawa Antioksidan Ekstrak Kasar Buah Pepino (*Solanum muricatum* Aiton) Berdasarkan Variasi Pelarut. *SKRIPSI*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang Malang.
- Indah, U. R., Irmina K. M., Didik P. 2010. Optimasi Ekstraksi Zat Warna Pada Kayu *Intsia bijuga* dengan Metode Pelarutan. *Prosiding Tugas Akhir Semester Ganjil Jurusan Kimia FMIPA – ITS*.
- Indriati, A. 2002. *Analisis Aktivitas Pada Buah Jambu Mete*. Biosains, http://digilib.brawijaya.ac.id/virtual_serial/pdf.
- Izzati, U. 2015. *Mekanisme Cara Kerja Antioksidan dalam Tubuh Untuk Melawan Radikal Bebas*. <http://urfiizzati.com/mekanisme-cara-kerja-antioksidan-dalam-tubuh-untuk-melawan-radikal-bebas/> Diakses pada tanggal 25 Mei 2015 pukul 11:39 WIB.
- Jadhav, S. J., S. S. Nimbalkar, A. D. Kulkarni, and D. L. Madhavi. 1996. *Lipid Oxidation in Biological and Food System*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Jawetz, E., J. L. Melnick, and E. A. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Mikrobiology) Diterjemahkan oleh H. Tomang*. Jakarta: Penerbit EGC.
- Jun, M. H. Y., J., Fong, X., Wan, C. S., Yang, C. T., Ho. 2003. Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones Form Kudzu Root (*Pueraria labata* O). *Journal Food Science Institute of Technologist*. 68: 2117-2122.
- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *SKRIPSI*. Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Schreckenbergrerr, P. C., Winn, W. C. 1997. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th Edition*. USA: Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 840-841.
- Kumalasari, E., Nanik S. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 1 (2): 53–54.

- Kurniawan, A. D. 2006. *Pengujian Aktivitas dan Mekanisme Antioksidan Ekstrak Gingseng Jawa*. Malang: FTP Universitas Brawijaya.
- Kusuma, S. A. F., Sri A. S., Ellin F., dan Ami T. 2009. Pengembangan Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Herbal Terstandar Untuk Mengatasi Keputihan Terhadap *Trichomonas vaginalis*. *Artikel Ilmiah: Hibah Penelitian Strategis Nasional. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran*.
- Lee, J. A. and Hee Y. C. 2010. In Vitro Antifungal Activity of Equol Against *Candida albicans*. *Journal of Mycobiology*. 38 (4): 328.
- Legowo, A. M, Nurwantoro, dan Sutaryo. 2007. *Buku Ajar Analisis Pangan*. Semarang: Program Studi Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan UNDIP.
- Lenny, Sovia. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida, Alkaloida*. USU Repository.
- Liana, Ida. 2010. Aktivitas Antimikroba Fraksi Dari Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum* D. Don) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Teraktif. *SKRIPSI. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta*.
- Luo, H., Cai, Y., Peng, Z., Liu, T., Yang, S. 2014. Chemical Composition and In Vitro Evaluation of The Cytotoxic and Antioxidant Activities of Supercritical Carbon Dioxide Extracts of Pitaya (Dragon Fruit) Peel. *Chemistry Central Journal*. 8 (1).
- Lutfiyanti, Rosiska, Widodo F. M., dan Eko N. D. 2012. Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak *Gelidium latifolium* Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 1 (1): 28.
- Ma'mun, S. Suhirman, F. Manoi, B. S. Sembiring, Tritianingsih, M. Sukmasari, A. Gani, Tjitjah F., dan D. Kustiwa. 2006. Teknik Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Purwoceng. *Laporan Pelaksanaan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*. Hal. 321.
- Madhavi, D. L., S. S. Deshpande, and D. K. Salunkhe. *Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives*. Marcel Dekker, Inc., New York. NY; 1996: 1-4.
- McKane, L., and J. Kandel. 1996. *Microbiology: Essentials and Applications*. New York: Mc Graw Hill Inc., 396-398.
- Melderer L. V. 2002. *Molecular Interaction of The CcdB Poison with Its Bacterial Target The DNA Gyrase*. *IJMM*. Pp. 291, 537-544.

- Miller, N. J. and Panganga G. 1996. *Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids*. Free radic Biol Med.
- Molyneux, P., 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol.* 26 (2): 211-219.
- Muchtaromah, B., Mujahidin A, Nurlaili S., Yanu A., Fitria N. M., M. N. Hasan, Arsinta S., Lusi A. R., Yuni M. A., dan Velayaty L. A. . 2014. Screening Tumbuhan Obat Madura yang Mempunyai Aktivitas Fertilitas. *Proposal Penelitian Penguatan Program Studi (P3S) Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Nareswati, N. 2007. *Proses Ekstraksi, Pengujian Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dan Penghambatan Pembentukan Hidrogen Peroksida Ekstrak Ubi Jalar Kuning Varietas Daya Dengan Berbagai Rasio Pelarut Heksan: Etanol*. Malang: FTP Universitas Brawijaya.
- Nirmala, A. 2012. *Antijamur Ekstrak Rimpang Dlingo (Acorus calamus L.) Terhadap Candida albicans Isolat Gigi Tiruan Lengkap Lepas Akriik*. <https://www.scribd.com/doc/82136217/Poster> Diakses pada tanggal 03 Februari 2015 pukul 15:57 WIB.
- Paiva, A. R. and M. R. Robert. 1999. β -Carotene and Carotenoids As Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition.* 18 (5): 426-433.
- Pakasi, Sandra E. dan Christina, dan L. Salaki. 2013. *Budidaya yang Baik Tanaman Karumenga (Acorus calamus)*. Sam Ratulangi: Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi.
- Pan, X., F. Chen, T. Wu, H. Tang, and Z. Zhao. 2009. The Acid, Bile Tolerance and Antimicrobial Property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Journal Food Control.* 20: 598-602.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerjemah: Ratna Siri Hadioetomo, Cetakan 1 & 2. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Percival, M. 1998. Antioxidants. *Journal of Clinical Nutrition Insights.* 31 (10): 1-4.
- Perwiratami, C., Meiny S. dan Bambang C. 2014. Korelasi Fenolat Total dan Flavonoid Total dengan Antioksidan Dari Beberapa Sediaan Ekstrak Buah Tanjung (*Mimusops elengi*). *Chem. Prog.* 7 (1): 34.
- Prakash, A., Fred R. and Eugene M. 2001. *Medallion Laboratories: Analytical Progress, Antioxidant Activity*. <http://www.medallionlabs.com/Downloads/>

- Prastiwati, Rahmani, Wranti S. R., dan Dwi H. 2010. Perbandingan Daya Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L) dengan Rutin Terhadap Radikal Bebas 1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). *Jurnal Pharmacy*. 7 (1): 6.
- Pratiwi, T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Purwati, U. R. 2009. Skrining Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etilasetat Daun Wedusan (*Eupatorium odoratum*). *Jurnal Molekul*. 4 (2): 94.
- Rahayu, T. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffee Terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. 10 (1): 10-17.
- Rahmawati, R. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* (L.) Presl) dan Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *SKRIPSI*. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Ramawat, K. G., Ed. 2004. *Biotechnology of Medicinal Plants: Vitalizer and Therapeutic* Enfield, New Hampshire: Science Publishers, Inc. 5.
- Rizal, M. H. S. 2010. Etnobotani Tumbuhan yang Dimanfaatkan Sebagai bahan Jamu Sapi Madura di Kabupaten Pamekasan Madura. *SKRIPSI*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rostinawati, T. 2010. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe javavica* D.C) Terhadap *Eschericia Coli*, *Staphylococcus Aureus* dan *Candida albicans*. Penelitian Mandiri. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jatinangor.
- Roupa, Z., Polikandrioti M., Sotiropoulou P., Faros E., Koulouri A., Wozniak G., dan Gourni M. 2009. Causes of Infertility in Women at Reproductive Age. *Health Science Journal*. 3(2): 80-87.
- Rustini, N. L. 2010. Aktivitas Antijamur Minyak Atsiri Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) Terhadap Jamur *Botryodiplodia theobromae* Penyebab Busuk Buah Pisang. *Jurnal Kimia*. 4 (2), ISSN 1907-9850. h. 174.
- Sa'roni, Adjirni, dan Pudjiastuti. 2002. Efek Analgetik dan Toksisitas Akut Ekstrak Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) pada Hewan Coba. *Media Litbang Kesehatan*. XII (3): 46.
- Saman, S. I., Nurhayati B., dan Wenny J. A. M. 2013. *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rimpang Jeringau*. Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo (<http://eprints.ung.ac.id/4805/>).

- Sandhiutami, Ni Made D., Lestari R., Tri O., dan Lili Y. S. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Rebusan Daun Sambang Getih (*Hemigraphis bicolor* Boerl.) dan Sambang Solok (*Aerva sanguinolenta* (L.) Blume) Secara *In Vitro*. *Penelitian Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila*. Hal. 3.
- Sanmugapriya, E. and S. Venkataraman. 2006. Studies on Hepatoprotective and Antioxidant Actions of *Strychnos potatorium* Linn. Seeds on CCl₄ Induced Acute Hepatic Injury in Experimental Rats. *J. Ethnopharmacol.* 105 (1-2): 154-160.
- Sari, R. Y., Evy W., dan Muflihati. 2014. *Ethnobotany of Medical Plants in Serambai Village, Sub-District of Kembayan, Sanggau, West Kalimantan*. Pontianak: Fakultas Kehutanan Universitas Tanjungpura.
- Savitri, E. S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Maliki Press.
- Sax, D., Lewis, R. 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Galler International.
- Schefflan, L. and B. J. Morris. 1983. *The Handbook of Solvent*, New York: D. Van Nostrand Comp. Inc.
- Septiani, S., Nasrul W., dan Soraya R. M. 2012. Formulasi Sediaan Masker Gel Antioksidan dari Ekstrak Etanol biji Melinjo (*Gnetum gnemon* Linn.). Bandung: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Setyaningsih, D., Ovi Y. N., dan Sri W.. 2009. Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang dan Daun Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). *Pusat Penelitian Surfaktan dan Bioenergi, LPPM IPB, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB*.
- Shahidi, F., Wanasundoro, U., and Amarowicz, R. 1995. *Isolation and Partial Characterization of Oil Seed Phenolics and Evaluation of Their Antioxidant Activity*, dalam Charolambous, editor, *Food Flavors; Generation, Analysis and Process Influence*, London: Elvisier Applied Science.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran Vol. 10*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sie, J. O. 2013. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux. Fakultas Farmasi. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 2 (1): 2.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sinambela, J. M. 2000. Langkah-Langkah Strategis Untuk Menjadikan Tanaman Obat Asli Indonesia Menjadi Sediaan Fitofarmaka. *Risalah Pertemuan*

Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi. PT. Indo Farma.

- Steenis, Van, CGGJ. 2008. *Flora*. Jakarta: Pradnya Paramita.
- Sudarmadji, S., Suhardi dan Bambang Haryono. 1989. *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberti Yogyakarta.
- Sudjaswadi, R. 2006. Peningkatan Efek Bakteriostatika Dispersi Padat Tetrasiklin HCl-Polieten Glikol 6000-tween 80 (PT). *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(2): 98-103.
- Sunarni. T., Pramono. S., dan Asmah. R., 2007. *Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepel (Stelechocarpus burahol (Bl.) Hook f. & Th.)*. Yogyakarta: Majalah Farmasi Indonesia. 18 (3). 111 – 116.
- Suprihatin. S, D. 1982. *Candida dan Kandidiasis Pada Manusia*. Jakarta: UI-Press.
- Suswita, D., Syamsuardi dan Ardinis Arbain. 2013. *Studi Etnobotani dan Bentuk Upaya Pelestarian Tumbuhan yang Digunakan dalam Upacara Adat Kendurisko di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Kerinci, Jambi*. Padang: Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Andalas.
- Syarif, A., Purwastyastuti A., Ari E., Rianto S., Arini S., dan Armen M. 2001. *Farmakologi dan Terapi edisi 4*. Jakarta: Gaya Baru.
- Trilaksani, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. <http://fa.lib.itb.ac.id/go.php?id=jbptitbfa-gdl-s2-1992-marlina-63.ITB>.
- Tumbas, V. T., Sonja M. D., Jasna M. C. B., Gordana S. C., and Sladana M. S. 2007. Solid-Phase Extraction of Antioxidant Compounds From Commercial Cranberry Extract and Its Antiradical Activity. *Journal APTEFF*. 38: 1-8.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari. N.S. Yogyakarta: Gajahmada University Press.
- Warsinah, Eka K., Sunarto. 2011. Identifikasi Senyawa Antifungi dari Kulit Batang Kecapi (*Sandoricum koetjape*) dan Aktivasnya Terhadap *Candida albicans*. *Majalah Obat Tradisional*. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 165 – 173.
- Wasito, Hendri. 2008. Meningkatkan Peran Perguruan Tinggi melalui Pengembangan Obat Tradisional. *Jurnal Mimbar*. XXIV (2): 117-127.
- Widaryanto, Eko. 2008. *Tanaman Obat Berkhasiat*. Malang: Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.

- Widyaningrum, T. dan Try W. 2015. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia*) Terhadap *Candida albicans*.
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP Serta Korelasinya Dengan Fenol Dan Flavonoid Pada Enam Tanaman. *SKRIPSI*. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Wijaya, J., Jusuf S., dan Jacky M.. 2012. *Potensi Ekstrak Metanol Daun Kapur (Harmsioplanax aculeatus, Harms) Sebagai Obat Antimalaria*. Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pattimura.
- Wijayakusuma, H. 1993. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Prestasi Insan Indonesia.
- Winarsih, S., Rita R., dan Irisda N.. 2011. Hambatan Ekstrak Etanol Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Isolat Vagina 218 SV Secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter FKUB*. Hal. 6.
- Wulandari, Y. F. 2001. Tanaman Obat Indonesia (TOI). *Conservation Indonesia*. 17 (04): 1-5.
- Yenie, Elvi, Shinta E., Anggi K., dan M. Irfhan. 2013. Pembuatan Pestisida Organik Menggunakan Metode Ekstraksi dari Sampah Daun Pepaya dan Umbi Bawang Putih. *Jurnal Teknik Lingkungan UNAND*. 10 (1): 48.
- Yusnita, Erna. 2012. Hubungan Pengetahuan Tentang Masa Subur dengan Kejadian Infertilitas pada Pasangan Infertil di Kelurahan Bantar Gebang Bekasi Tahun 2012. *Jurnal Program Studi D III Kebidanan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Medistra Indonesia Bekasi*. Hal. 3.
- Yustina, S. H. 2008. *Daya Antibakteria Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (Foeniculum vulgare Mill.) dan Kulit Batang Pulasari (Alyxia reindwartii BL.)*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universtias Sanata Dharma.
- Yuswantina, R., Oni Y. W., dan Peni W. 2011. *The Experiment Antioxidant Activity of Aleurite moluccana (L.) Wiild Leaves Ethanolic Extract by DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method*. Pp. 06.
- Zainurrahman, M. 2005. *Studi Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri (Eschericia Colli dan Staphylococcus aureus) pada Ekstrak Daun Benalu Teh (Scurulla Atropurpurea) Segar dan Daun Benalu Teh Kering*. Malang: FTP Universitas Brawijaya.

L.1.2.2 Penentuan Kadar Air

Simplisia Rimpang
Jeringau

- Dilakukan pengovenan terhadap silica gel dengan suhu 100°C
- Ditimbang cawan kosong sebanyak 3 buah sebagai ulangan sampai menemukan berat konstan (selisih maksimal 0,002 gram setiap ulangan)
- Jika sudah menemukan berat konstan, kemudian ditimbang sebanyak 5 g sampel (cawan + sampel).
- Lalu sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 jam
- Kemudian dikeluarkan dari oven dan didinginkan di dalam desikator selama 15 menit (desikator dipompa vakum agar terjaga dari kelembapan)
- Setelah itu sampel ditimbang. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali hingga berat sampel konstan.
- Kadar air dihitung berdasar rumus (AOAC, 2005):

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong
b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan
c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

HASIL

L.1.2.3 Penarikan Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi

Simplisia Kering

- Simplisia ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer tutup 500 mL
- Ditambahkan dengan pelarut etanol p.a (polar), klorofom p.a (semipolar) dan *n*-heksana p.a (non polar) masing-masing sebanyak 400 mL (1 : 4)
- Kemudian diaduk hingga merata dan dimaserasi (didiamkan) selama sehari (24 jam) pada suhu kamar
- Setelah itu digoyang selama 1 jam untuk mencapai kondisi homogen dalam *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) diulang sebanyak 3 kali
- Hasil maserasi yang berupa larutan (maserat) kemudian disaring dengan kertas saring dan corong *Buchner* sehingga didapat filtrat dan residu
- Kemudian residu penyaringan diangin-anginkan dan dilakukan remaserasi (maserasi ulang) selama 24 jam diulang sampai 3 kali.
- Hasil saringan (filtrat) 1-3 yang telah diperoleh dicampur menjadi satu.

HASIL

L.1.2.4 Pemekatan Ekstrak Kasar dengan Rotary Evaporator

FILTRAT

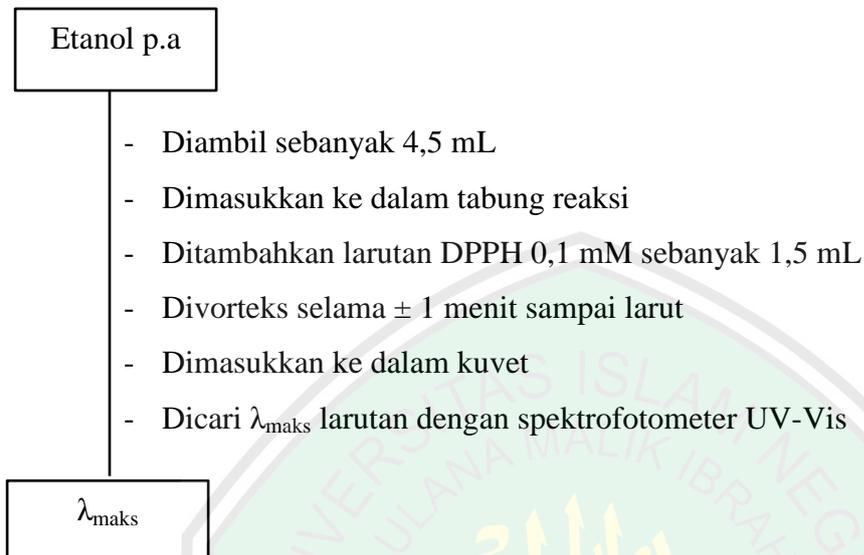
- Dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C hingga pelarut memisah dengan ekstrak dan diperoleh ekstrak pekat yang nantinya digunakan untuk bahan uji aktivitas antioksidan dan antifungi.
- Masing-masing ekstrak dihitung nilai rendemennya dengan persamaan:

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

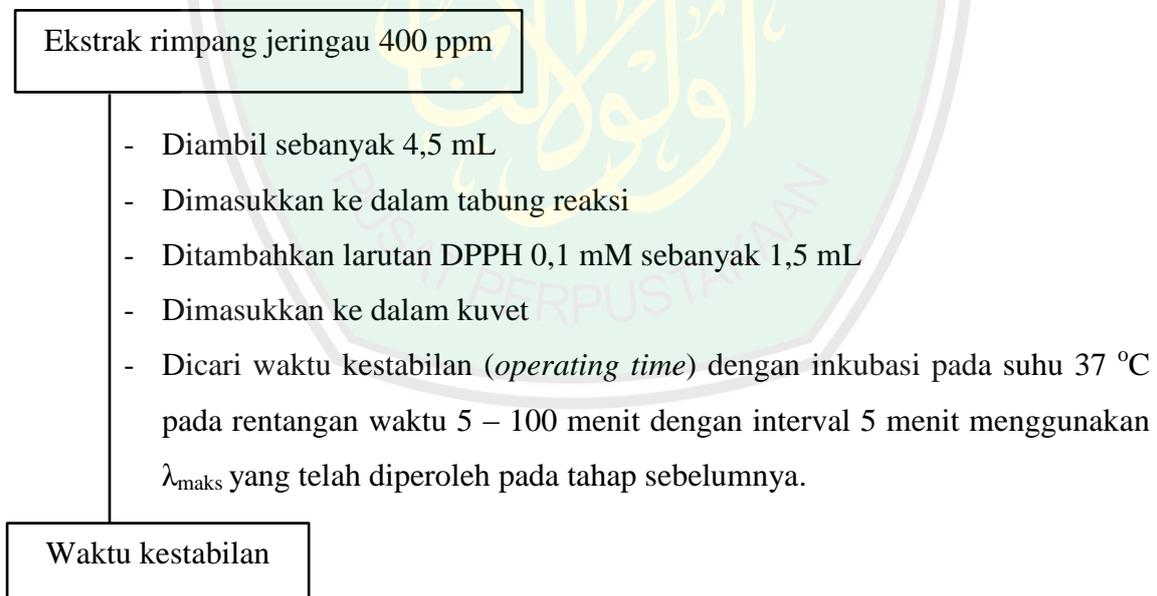
HASIL

L.1.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Jeringau dengan Metode DPPH

L.1.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



L.1.3.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan



L.1.3.3 Pengukuran Potensi Antioksidan Ekstrak Rimpang Jeringau

a. Pembuatan Larutan Kontrol

Etanol p.a

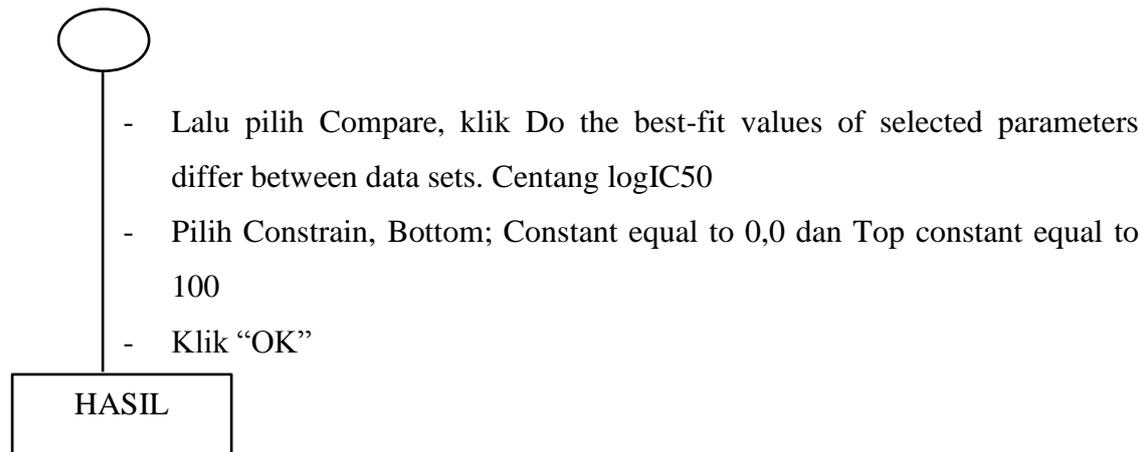
- Diambil sebanyak 4,5 mL
- Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- Ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,5 mL
- Ditutup dengan alumunium voil
- Divorteks sampai larut
- Diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah diketahui
- Dimasukkan ke dalam kuvet
- Diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis menggunakan λ_{maks} yang telah diperoleh pada tahap sebelumnya.

Abs. larutan kontrol

b. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Jeringau

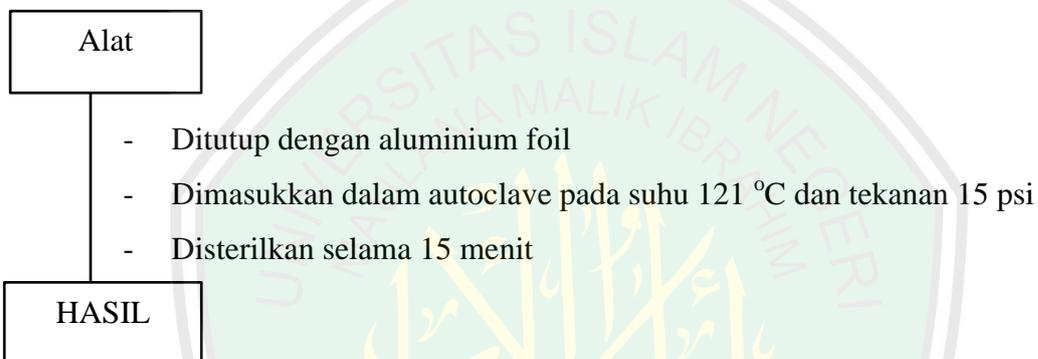
Stok larutan ekstrak rimpang jeringau 500 ppm

- Dibuat pengenceran larutan ekstrak rimpang jeringau dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm
- Diambil sebanyak 4,5 mL dari masing-masing larutan
- Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- Ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,5 mL
- Ditutup dengan alumunium voil
- Divorteks sampai larut
- Diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah diketahui (pencatatan waktu dimulai bersamaan dengan memasukkan DPPH)
- Dimasukkan ke dalam kuvet

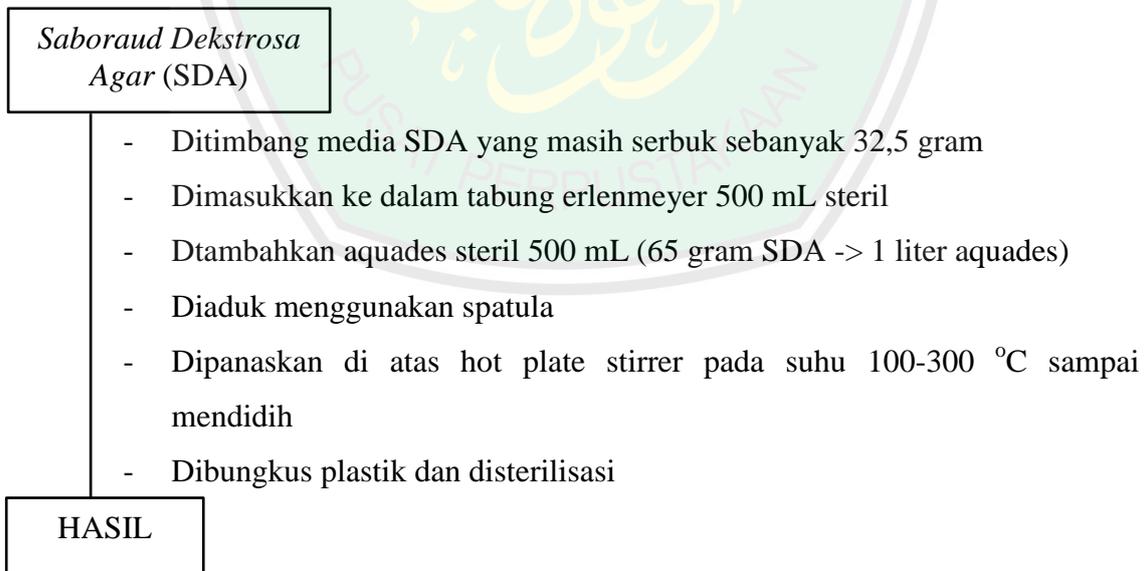


L.1.4 Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Rimpang Jeringau

L.1.4.1 Sterilisasi Alat

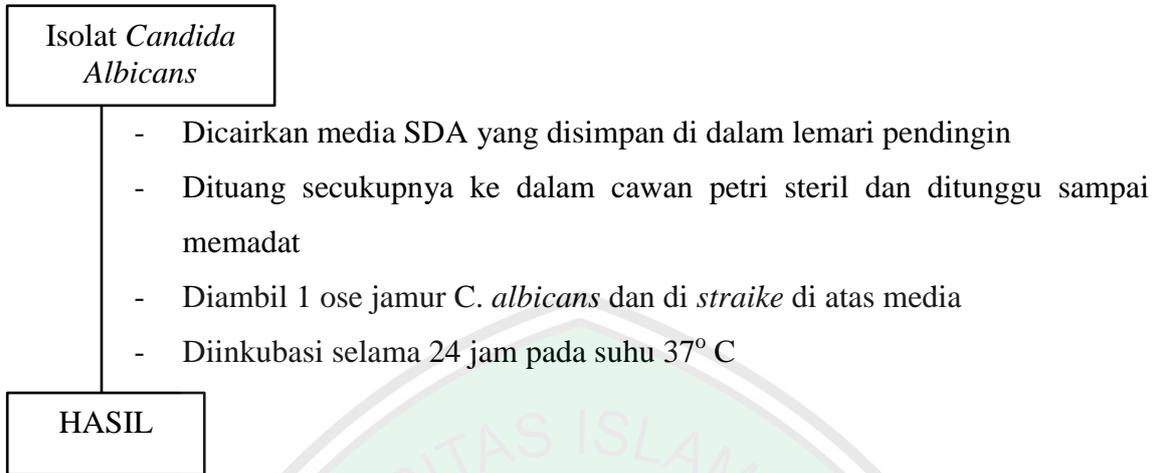


L.1.4.2 Pembuatan Media

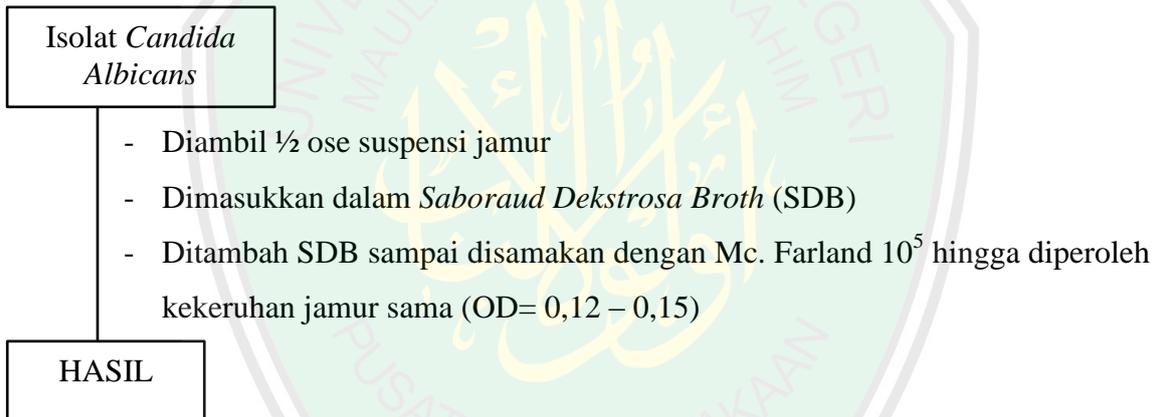


L.1.4.3 Kultivasi Jamur *Candida albicans*

a. Regenerasi jamur *C. albicans*



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

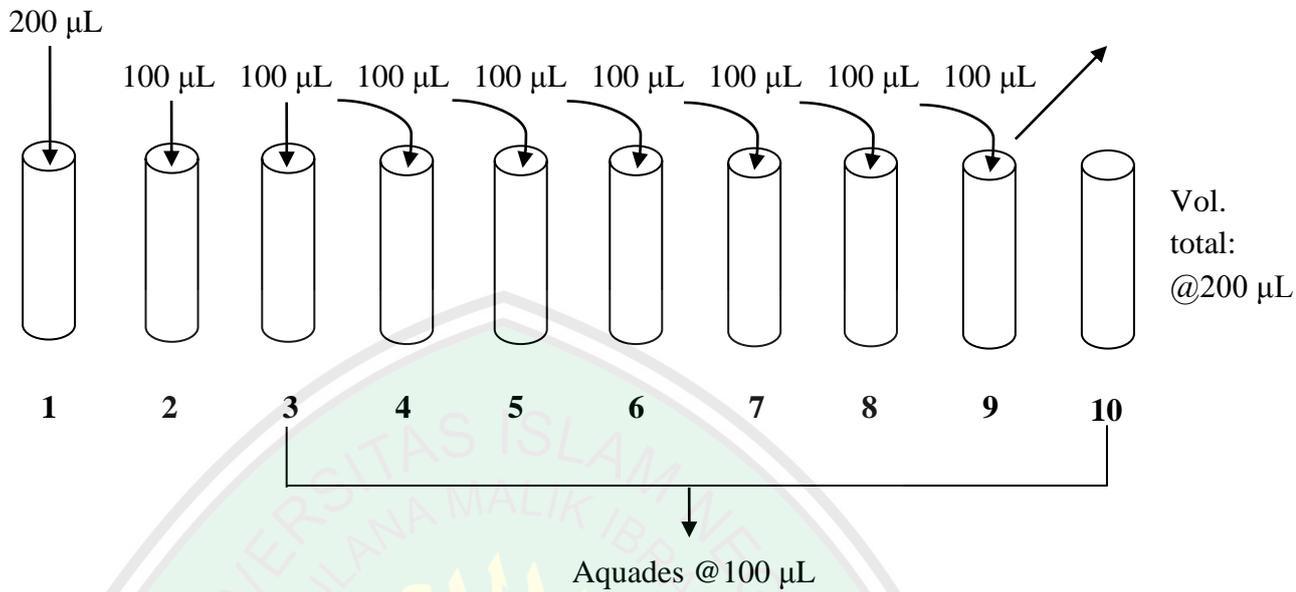


L.1.4.4 Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Rimpang Jeringau dengan Beberapa Pelarut Organik

a. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Larutan antifungi

- Diberi nomor 1 s/d 10 pada tabung steril yang disediakan (Keterangan: tabung no. 1 = kontrol bahan, tabung no. 2-9 = larutan antifungi (ekstrak uji), dan tabung no. 10 = kontrol kuman)
- Dibuat larutan antifungi dari ekstrak dengan konsentrasi 100 % (ditambah *emulsion fyer/Tween 80 %*)
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 200 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* 10^6 pada media SDB) sebanyak 100 μL ke dalam tabung 2-10. Dengan demikian volume masing-masing tabung menjadi 200 μL , sehingga konsentrasi akhir antifungi berubah.
- Dari pengenceran di atas, maka konsentrasi awal dari masing-masing tabung (antifungi) berubah menjadi seperti terlihat pada skema berikut:



Keterangan tabung:

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

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

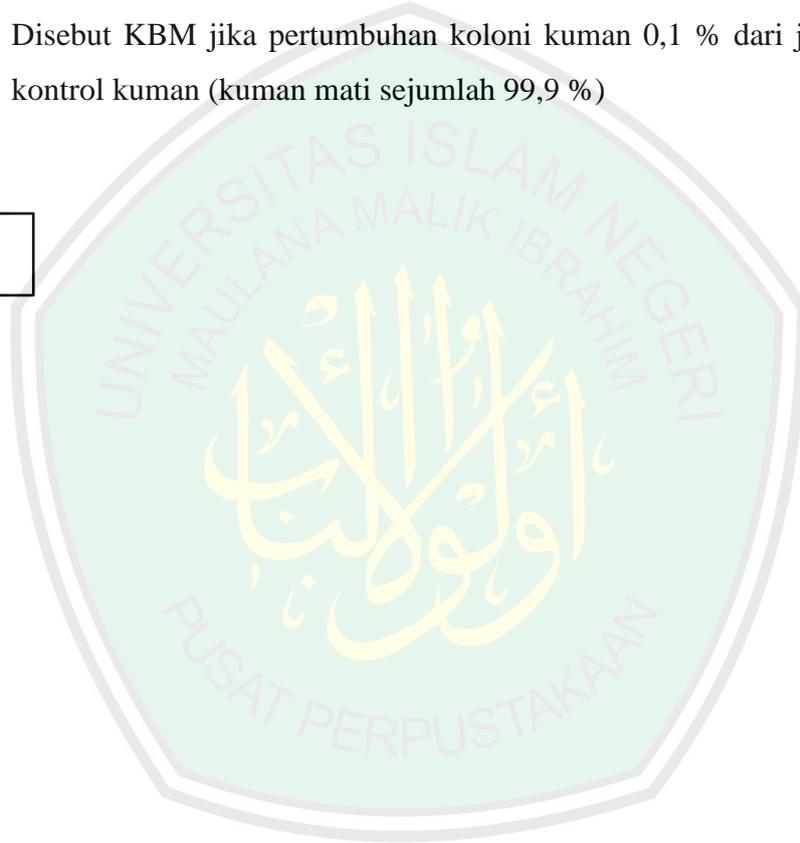
HASIL

b. 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



Lampiran 2. Perhitungan

L.2.1 Perhitungan Kadar Air Sampel Rimpang Jeringau

a. Pengukuran Berat Cawan Sampai Konstan setelah dikeringkan

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	54,2445	53,6384	58,1678
Ulangan 2	54,2415	53,6360	58,1631
Ulangan 3	54,2403	53,6372	58,1629
Ulangan 4	54,2445	53,6388	58,1652
Ulangan 5	54,2426	53,6378	58,1646

b. Pengukuran Berat Cawan + Sampel Rimpang Jeringau Kering Sampai Konstan

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g) + sampel		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Sebelum dioven	59,2438	58,6389	63,1647
Ulangan 1	58,6369	57,9898	62,5005
Ulangan 2	58,6085	57,9478	62,4371
Ulangan 3	58,5168	57,8531	62,3248
Ulangan 4	58,4593	57,7809	62,2614
Ulangan 5	58,4338	57,7904	62,2560
Ulangan 6	58,3913	57,7693	62,2314
Ulangan 7	58,3770	57,7454	62,2192
Ulangan 8	58,3858	57,7467	62,2153
Ulangan 10	58,3646	57,7594	62,2106
Ulangan 11	58,3213	57,7446	62,2137
Ulangan 12	58,3073	57,6951	62,1750

Ulangan 13	58,3131	57,6988	62,1820
Ulangan 14	58,3046	57,6512	62,1380
Ulangan 15	58,2952	57,6592	62,1139
Ulangan 16		57,6341	62,1130
Ulangan 17		57,6266	62,1110
Ulangan 18		57,6215	

$$\begin{aligned}
 \text{1. Kadar air cawan 1} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{59,2438 - 58,2952}{59,2438 - 53,2426} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,9486}{5,0012} \times 100 \% \\
 &= 0,189 \times 100 \% \\
 &= 18,9 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{2. Kadar air cawan 2} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{58,6389 - 57,6215}{58,6389 - 53,6378} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,0174}{5,0011} \times 100 \% \\
 &= 0,203 \times 100 \% \\
 &= 20 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{3. Kadar air cawan 3} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{63,1647 - 62,1110}{63,1647 - 58,1646} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,0537}{5,0001} \times 100 \% \\
 &= 0,21 \times 100 \% \\
 &= 21 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{➤ Kadar air rata-rata} &= \frac{18,9 \% + 20 \% + 21 \%}{3} \\
 &= \frac{59,9 \%}{3} \\
 &= \mathbf{19,9 \%}
 \end{aligned}$$

L.2.2 Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Rimpang Jeringau

No.	Pelarut	Volume (mL)	Berat Sampel (gram)	Rendemen (%) (b/b)	Warna Ekstrak	Tekstur Ekstrak Kasar
1.	Etanol p.a	400	100	7,8	Cokelat kehijauan	Bubur
2.	Kloroform p.a	400	100	3,3	Cokelat kemerahan	Bubur
3.	<i>n</i> -heksana p.a	400	100	2,4	Cokelat kehitaman (tua)	Cairan pekat

Nilai rendemen dihitung menggunakan rumus (Husnah, 2009):

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

L.2.2.1 Ekstrak Etanol p.a

$$\text{Berat botol kosong} = 89,5885 \text{ g}$$

$$\text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} = 97,3936 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \\
 &\text{ekstrak}
 \end{aligned}$$

$$\text{pekat}) - \text{Berat botol kosong}$$

$$= 97,3936 \text{ g} - 89,5885 \text{ g}$$

$$= 7,8051 \text{ g}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{7,8051 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 7,8051 \% \text{ (b/b)}$$

L.2.2.2 Ekstrak Kloroform p.a

$$\begin{aligned}
 \text{Berat botol kosong} &= 90,0625 \text{ g} \\
 \text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} &= 93,3141 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \\
 &\text{ekstrak} \\
 &\text{pekat}) - \text{Berat botol kosong} \\
 &= 93,3141 \text{ g} - 90,0625 \text{ g} \\
 &= 3,2516 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{3,2516 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 3,2516 \% \text{ (b/b)}
 \end{aligned}$$

L.2.2.3 Ekstrak n-heksana p.a

$$\begin{aligned}
 \text{Berat botol kosong} &= 91,9182 \text{ g} \\
 \text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} &= 94,3031 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \\
 &\text{ekstrak} \\
 &\text{pekat}) - \text{Berat botol kosong} \\
 &= 94,3031 \text{ g} - 91,9182 \text{ g} \\
 &= 2,3849 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{2,3849 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 2,3849 \% \text{ (b/b)}
 \end{aligned}$$

L.2.3 Cara Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

$$\begin{aligned}
 \text{Volume larutan} &= 5 \text{ mL} \\
 \text{BM DPPH} &= 394,33 \text{ g/mol} \\
 \text{Mol DPPH} &= \text{Volume} \times \text{Konsentrasi} \\
 &= 5 \text{ mL} \times 0,1 \text{ mM} \\
 &= 0,005 \text{ L} \times 0,0001 \text{ M} \\
 &= 0,0000005 \text{ mol} \\
 \text{Massa DPPH} &= \text{mol} \times \text{BM} \\
 &= 0,0000005 \text{ mol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\
 &= 0,000197165 \text{ g} \\
 &= 0,197165 \text{ mg (dibulatkan 0,2 mg)}
 \end{aligned}$$

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).

L.2.4 Cara Pembuatan Stok Larutan Ekstrak Rimpang Jeringau 500 ppm

$$\begin{aligned}
 500 \text{ ppm} &= 500 \text{ mg/L} \\
 &= 500 \text{ mg}/1000 \text{ mL} \\
 &= 5 \text{ mg}/10 \text{ mL} \text{ atau } 2,5 \text{ mg}/5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

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

L.2.5 Cara Pengenceran Ekstrak Rimpang Jeringau 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm

➤ Pembuatan Sampel 400 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan:

V_1 = volume yang diambil untuk pengenceran

V_2 = volume larutan yang diinginkan

M_1 = konsentrasi larutan stok

M_2 = konsentrasi larutan hasil pengenceran

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 400 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 4 \text{ mL}$$

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

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

500 ppm

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

➤ Pembuatan Sampel 100 ppm

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

500 ppm

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

➤ **Pembuatan Sampel 50 ppm**

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

500 ppm

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

➤ **Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm**

$$V_1 = \frac{5 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ mL}$$

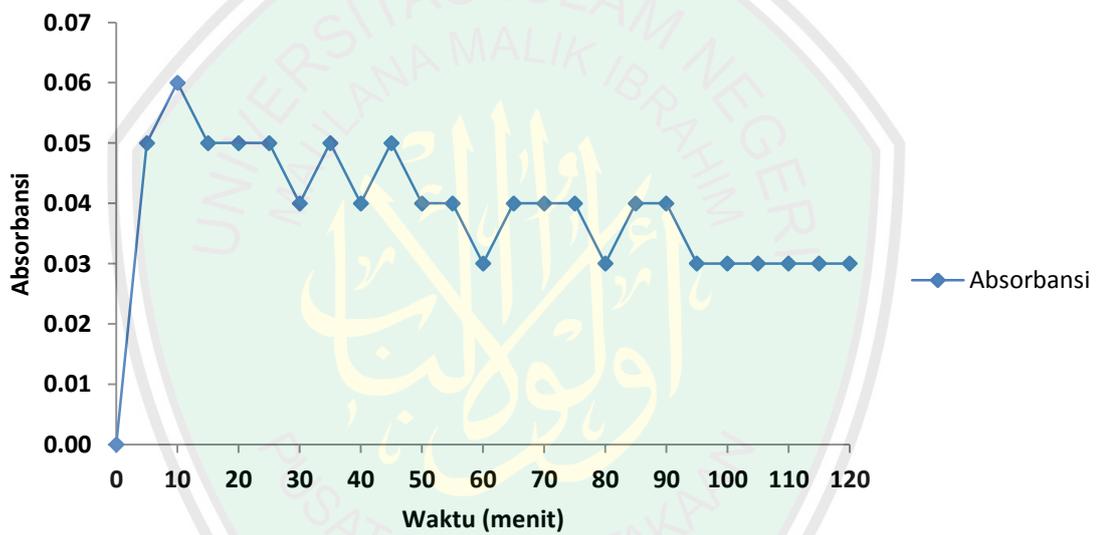
500 ppm

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

L.2.6 Cara Pembuatan Larutan Uji Konsentrasi 100 % Pada Uji Diameter Zona Hambat

Sebanyak 0,1 g ekstrak etanol p.a, kloroform p.a, dan n-heksana p.a dilarutkan dalam 100 μL (0,1 mL) pelarut etanol 70 % v/v sebagai larutan stok (100 %).

75	0.039	0.043	0.04	0.04
80	0.027	0.031	0.03	0.03
85	0.037	0.04	0.037	0.04
90	0.036	0.038	0.037	0.04
95	0.034	0.036	0.034	0.03
100	0.034	0.035	0.035	0.03
105	0.027	0.029	0.028	0.03
110	0.032	0.034	0.034	0.03
115	0.031	0.032	0.032	0.03
120	0.026	0.028	0.026	0.03



Gambar Penentuan *Operating time* ekstrak dan larutan DPPH.

b. Pengukuran Optimasi Waktu 515 nm DPPH 0,1 mM (Vitamin C)

Waktu (Menit ke-)	Nilai A1	Nilai A2	Nilai A3	Rata-Rata
Blanko	0	0	0	0.000
5	0.018	0.012	0.011	0.014
10	0.011	0.01	0.01	0.010
15	0.018	0.021	0.019	0.019
20	0.02	0.019	0.021	0.020
25	0.005	0.006	0.005	0.005
30	0.001	0.01	0.004	0.005
35	0.004	0.005	0.006	0.005
40	0.003	0.002	0.003	0.003
45	0.005	0.003	0.004	0.004
50	0.001	0.002	0.001	0.001
55	0.004	0.004	0.005	0.004
60	0.002	0.002	0.001	0.002
65	0.004	0.002	0.004	0.003
70	0.013	0.014	0.012	0.013
75	0.013	0.013	0.013	0.013
80	0.006	0.005	0.006	0.006
85	0.01	0.006	0.007	0.008
90	0.01	0.01	0.007	0.009
95	0.009	0.01	0.01	0.010
100	0.018	0.02	0.017	0.018
105	0.005	0.006	0.005	0.005
110	0.026	0.025	0.025	0.025
115	0.01	0.01	0.009	0.010
120	0.015	0.017	0.014	0.015

L.3.3 Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol p.a

Konsentra si (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log [Konsentras i]	Absorbansi Kontrol	Aktivitas Antioksidan (% Peredaman)
	1	2	3				
25	0,2159	0,2160	0,2164	0,2161	1,40	0,2342	7,73
50	0,1984	0,1983	0,1983	0,1983	1,70	0,2355	15,80
100	0,1450	0,1452	0,1455	0,1452	2,00	0,2353	38,29
200	0,0910	0,0905	0,0903	0,0906	2,30	0,2347	61,40
400	0,0270	0,0264	0,0278	0,0271	2,60	0,2343	88,43

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Contoh:

$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas antioksidan} &= \frac{(0,2342 - 0,2161)}{0,2342} \times 100 \% \\ &= 7,728 \% \end{aligned}$$

Nilai IC50 dihitung menggunakan software “Graphpad Prism5” dengan konsentrasi 25 – 400 ppm.

Konsentrasi (ppm)	Log [Konsentrasi] (ppm)	Antivitas Antioksidan (%)
25	1,40	7,73
50	1,70	15,80
100	2,00	38,29
200	2,30	61,40
400	2,60	88,43

Sehingga diperoleh persamaan:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{[\text{LogIC50} - X] * \text{HillSlope}})$$

$$Y = 0,0 + (100 - 0,0) / (1 + 10^{(2,139 - X) \cdot 1,629})$$

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate
LogIC50 different for each data set
LogIC50 same for all data sets

Models have the same DF
LogIC50 different for each data set

LogIC50 different for each data set

Best-fit values

Bottom = 0.0

Top = 100.0

LogIC50 = 2.139

HillSlope = 1.629

IC50 = 137.7

Span = 100.0

Std. Error

LogIC50 = 0.02123

HillSlope = 0.1248

95% Confidence Intervals

LogIC50 = 2.071 to 2.207

HillSlope = 1.232 to 2.026

IC50 = 117.9 to 160.9

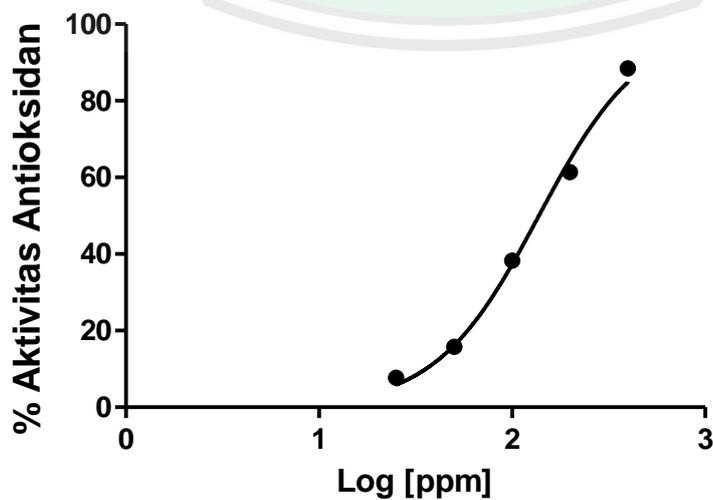
Goodness of Fit

Degrees of Freedom = 3

R square = 0.9938

Absolute Sum of Squares	27.44	
Sy.x	3.024	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	2.139	2.139
HillSlope	1.629	
IC50	137.7	137.7
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.02123	0.02123
HillSlope	0.1248	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	2.071 to 2.207	2.071 to 2.207
HillSlope	1.232 to 2.026	
IC50	117.9 to 160.9	117.9 to 160.9
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0.9938	0.9938
Absolute Sum of Squares	27.44	27.44
Sy.x		3.024
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
Analyzed	5	

Grafik IC₅₀ Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau



b. Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform p.a

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log [Konsentrasi]	Absorbansi Kontrol	Aktivitas Antioksidan (% Peredaman)
	1	2	3				
25	0,1217	0,1214	0,1217	0,1216	1,40	0,1267	4,03
50	0,1153	0,1151	0,1147	0,1151	1,70	0,1263	8,87
100	0,0958	0,0955	0,0963	0,0959	2,00	0,1255	23,59
200	0,0757	0,0764	0,0776	0,0765	2,30	0,1279	40,19
400	0,0574	0,0579	0,0619	0,0591	2,60	0,1290	54,19

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Contoh:

$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas antioksidan} &= \frac{(0,1267 - 0,1216)}{0,1267} \times 100 \% \\ &= 4,025 \% \end{aligned}$$

Nilai IC50 dihitung menggunakan software “Graphpad Prism5” dengan konsentrasi 25 – 400 ppm.

Konsentrasi (ppm)	Log [Konsentrasi] (ppm)	Antivitas Antioksidan (%)
25	1,40	4,03
50	1,70	8,87
100	2,00	23,59
200	2,30	40,19
400	2,60	54,19

Sehingga diperoleh persamaan:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{[\text{LogIC50} - X] * \text{HillSlope}})$$

$$Y = 0,0 + (100 - 0,0) / (1 + 10^{(2,499 - X) \cdot 1,106})$$

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate
LogIC50 different for each data set
LogIC50 same for all data sets

Models have the same DF
LogIC50 different for each data set

LogIC50 different for each data set

Best-fit values

Bottom	= 0.0
Top	= 100.0
LogIC50	2.499
HillSlope	1.106
IC50	315.8
Span	= 100.0
Std. Error	
LogIC50	0.03379
HillSlope	0.1043
95% Confidence Intervals	
LogIC50	2.392 to 2.607
HillSlope	0.7740 to 1.438
IC50	246.5 to 404.5
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R square	0.9862
Absolute Sum of Squares	24.57
Sy.x	2.862
Constraints	
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0

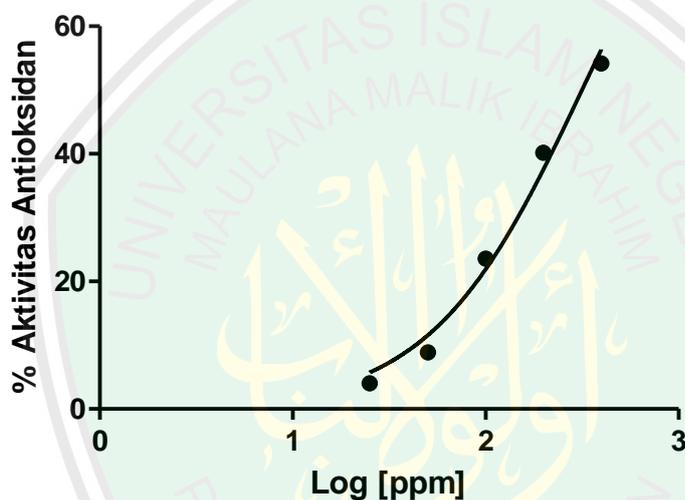
LogIC50 same for all data sets

Best-fit values

Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	2.499	2.499
HillSlope	1.106	
IC50	315.8	315.8
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.03379	0.03379
HillSlope	0.1043	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	2.392 to 2.607	2.392 to 2.607
HillSlope	0.7740 to 1.438	

IC50	246.5 to 404.5	246.5 to 404.5
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0.9862	0.9862
Absolute Sum of Squares	24.57	24.57
Sy.x		2.862
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
Analyzed	5	

Grafik IC₅₀ Ekstrak Kloroform Rimpang Jeringau



c. Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-heksana p.a

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log [Konsentrasi]	Absorbansi Kontrol	Aktivitas Antioksidan (% Peredaman)
	1	2	3				
25	0,2621	0,2621	0,2615	0,2619	1,40	0,265	1,17
50	0,2508	0,2497	0,2552	0,2519	1,70	0,2629	4,18
100	0,2532	0,2521	0,2529	0,2527	2,00	0,2611	3,22
200	0,2397	0,2399	0,2401	0,2399	2,30	0,2611	8,12
400	0,2049	0,2042	0,2046	0,2045	2,60	0,261	21,65

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas antioksidan} \\ = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \% \end{aligned}$$

Contoh:

$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas antioksidan} &= \frac{(0,265 - 0,2619)}{0,265} \times 100 \% \\ &= 1,16981 \% \end{aligned}$$

Nilai IC50 dihitung menggunakan software “Graphpad Prism5” dengan konsentrasi 25 – 400 ppm.

Konsentrasi (ppm)	Log [Konsentrasi] (ppm)	Antivitas Antioksidan (%)
25	1,40	1,17
50	1,70	4,18
100	2,00	3,22
200	2,30	8,12
400	2,60	21,65

Sehingga diperoleh persamaan:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{[\text{LogIC50} - X] * \text{HillSlope}})$$

$$Y = 0,0 + (100 - 0,0) / (1 + 10^{(3,005 - X) \cdot 1,406})$$

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate
LogIC50 different for each data set

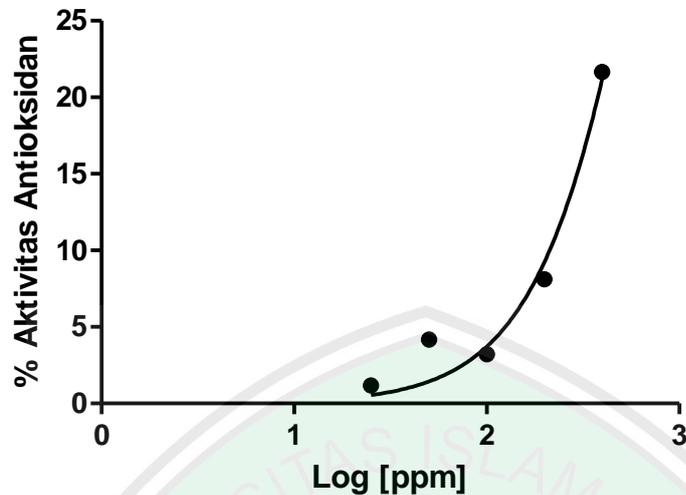
LogIC50 same for all data sets

Models have the same DF
LogIC50 different for each data set

LogIC50 different for each data set

Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	3.005	
HillSlope	1.408	
IC50	1011	
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.08874	
HillSlope	0.2413	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	2.722 to 3.287	
HillSlope	0.6396 to 2.175	
IC50	527.5 to 1936	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R square	0.9644	
Absolute Sum of Squares	9.606	
Sy.x	1.789	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50 same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	3.005	3.005
HillSlope	1.408	
IC50	1011	1011
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.08874	0.08874
HillSlope	0.2413	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	2.722 to 3.287	2.722 to 3.287
HillSlope	0.6396 to 2.175	
IC50	527.5 to 1936	527.5 to 1936
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0.9644	0.9644
Absolute Sum of Squares	9.606	9.606
Sy.x		1.789
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
Analyzed	5	

Grafik IC₅₀ Ekstrak n-Heksana Rimpang Jeringau



d. Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Pembeding (Vitamin C)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan (Absorbansi sampel)			Rerata	Log [Konsentrasi]	Absorbansi Kontrol	Aktivitas Antioksidan (% Peredaman)
	1	2	3				
25	0,2186	0,2100	0,2117	0,2134	1,40	0,3548	39,85
50	0,0249	0,0244	0,0248	0,0247	1,70	0,3541	93,02
100	0,0251	0,0251	0,0251	0,0251	2,00	0,354	92,91
200	0,0274	0,0276	0,0280	0,0276	2,30	0,353	92,18
400	0,0304	0,0317	0,0310	0,0310	2,60	0,3524	91,20

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Contoh:

$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas antioksidan} &= \frac{(0,3548 - 0,2134)}{0,3548} \times 100 \% \\ &= 39,853 \% \end{aligned}$$

Nilai IC50 dihitung menggunakan software “Graphpad Prism5” dengan konsentrasi 25 – 400 ppm.

Konsentrasi (ppm)	Log [Konsentrasi] (ppm)	Antivitas Antioksidan (%)
25	1,40	39,85
50	1,70	93,02
100	2,00	92,91
200	2,30	92,18
400	2,60	91,20

Sehingga diperoleh persamaan:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{[\text{LogIC50} - X] * \text{HillSlope}})$$

$$Y = 0,0 + (100 - 0,0) / (1 + 10^{(1,443 - X) \cdot 4,128})$$

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate
LogIC50 different for each data set
LogIC50 same for all data sets

Models have the same DF
LogIC50 different for each data set

LogIC50 different for each data set

Best-fit values

Bottom = 0.0

Top = 100.0

LogIC50 1.443

HillSlope 4.128

IC50 27.71

Span = 100.0

Std. Error

LogIC50 0.03333

HillSlope 1.595

95% Confidence Intervals

LogIC50 1.337 to 1.549

HillSlope -0.9483 to 9.205

IC50 21.71 to 35.37

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 3

R square 0.9172

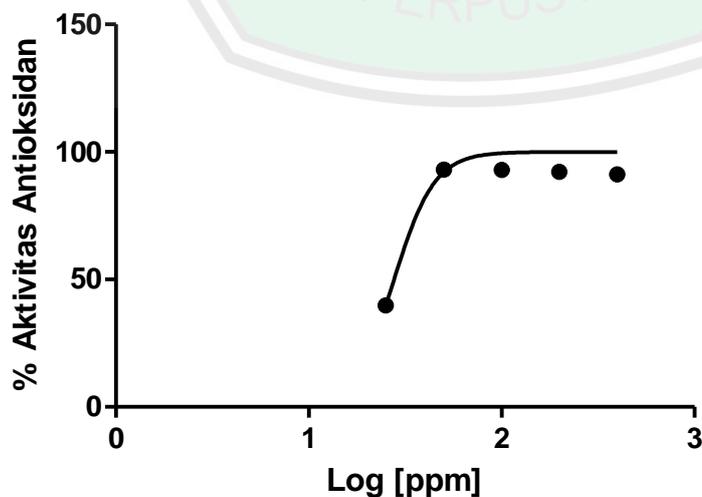
Absolute Sum of Squares	182.6
Sy.x	7.801
Constraints	
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0

LogIC50 same for all data sets

Best-fit values

Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogIC50	1.443	1.443
HillSlope	4.128	
IC50	27.71	27.71
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogIC50	0.03333	0.03333
HillSlope	1.595	
95% Confidence Intervals		
LogIC50	1.337 to 1.549	1.337 to 1.549
HillSlope	-0.9483 to 9.205	
IC50	21.71 to 35.37	21.71 to 35.37
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0.9172	0.9172
Absolute Sum of Squares	182.6	182.6
Sy.x		7.801
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogIC50	LogIC50 is shared	
Number of points		
Analyzed	5	

Grafik IC₅₀ Pemanding (Vitamin C)



Lampiran 4. Hasil Penelitian Antifungi

L.4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat

Tabel Rerata Diameter Daya Hambat Bakteri Uji pada Tiap Perlakuan:

No,	Sampel	Zona Hambat (mm)			Rata- Rata1	Rata- Rata2	ZONA BENING (ZONA HAMBAT) Dikurangi Kontrol Etanol
		I	II	III			
1.	Jeringau Etanol	13,2	12,87	10,82	12,30	10,49	3,72
		7,52	9,7	8,65	8,62	4,49*	
		10,56	10,78	10,28	10,54		
2.	Jeringau Kloroform	9,49	10,53	10,36	10,13	8,99	2,22
		9,39	7,8	7,91	8,37	2,99*	
		7,63	8,78	9,00	8,47		
3.	Jeringau n- heksana	10,22	9,3	9,84	9,79	10,09	3,32
		10,02	10,39	9,2	9,87	4,09*	
		11,9	9,74	10,24	10,63		
4.	Kontrol Nystatin	24,45	24,72	23,98	24,38	24,45	17,68
		23,96	23,22	27,64	24,94	18,45*	
		23,21	24,90	24,01	24,04		
5.	Kontrol Etanol	7,08	6,61	6,60	6,76	6,77	
		6,35	6,2	7,08	6,54	0,77*	
		7,15	7,46	6,37	6,99		

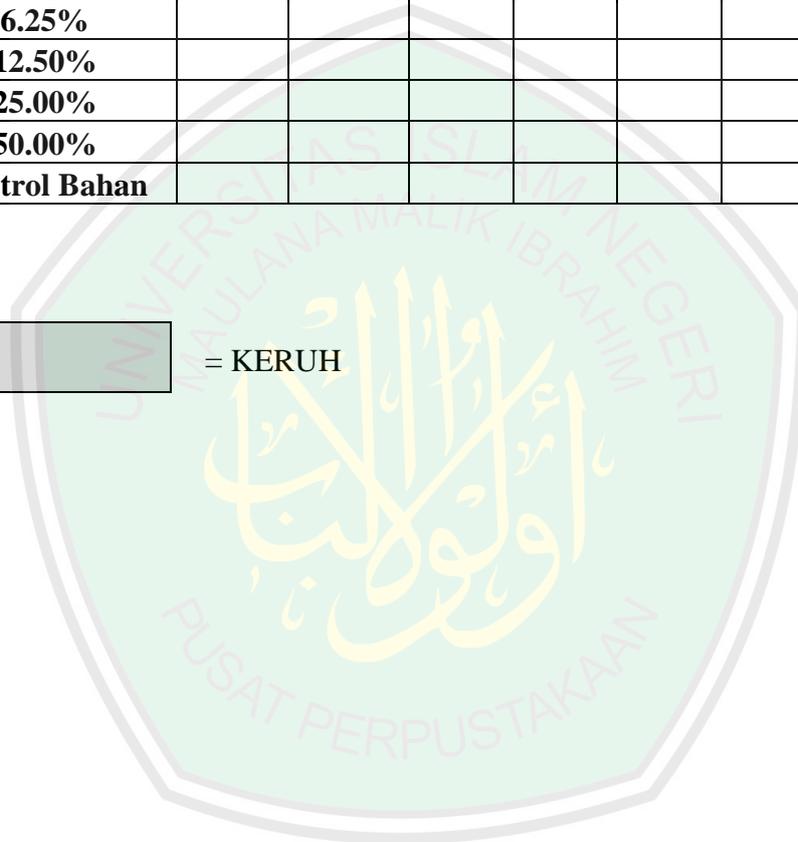
*) Ukuran diameter zona hambat yang sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram (6 mm).

L.4.2.2 Keterangan KHM-KBM

KONSENTRASI	Jeringau (Ethanol)			Jeringau (Kloroform)			Jeringau (n-heksan)		
Kontrol mikroba									
0.390%	KHM	KHM	KHM	KHM	KHM	KHM	KHM	KHM	KHM
0.780%	KBM	KBM	KBM	KBM	KBM	KBM	KBM	KBM	KBM
1.56%									
3.13%									
6.25%									
12.50%									
25.00%									
50.00%									
Kontrol Bahan									



= KERUH



Lampiran 5. Gambar (Dokumentasi) Penelitian

L.5.1 Preparasi Sampel

L.5.1.1 Tanaman Jeringau (*Acorus calamus L.*)

			
Tanaman Jeringau	Rimpang Jeringau	Herbarium Peneliti: Tanaman Jeringau	Simplisia Rimpang Jeringau

L.5.1.2 Alat-Alat Pembuatan Simplisia

		
Pencucian	Perajangan	Penjemuran
		
Pengeringan dengan oven	Pensortiran	Penggilingan/penghalusan

L.5.2 Analisis Kadar Air

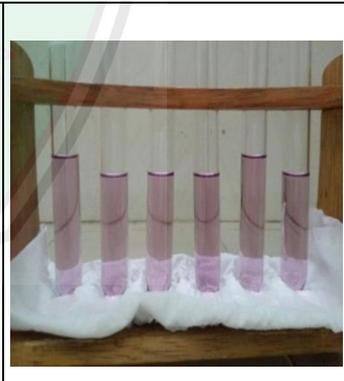
			
Sampel dalam cawan porselin	Pengovenan	Desikator	Penimbangan

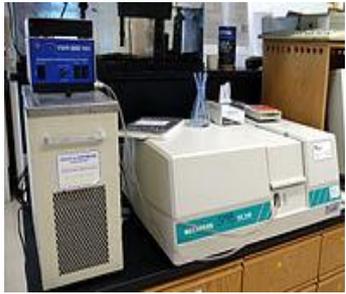
L.5.3 Proses Ekstraksi Sampel

			
Penimbangan simplisia	Dimasukkan ke dalam erlenmeyer tutup	Maserasi I (sampel 100 g : pelarut 400 mL)	Pengocokan sampel menggunakan <i>shaker incubator</i>
			
Ekstrak I hasil maserasi 400 mL etanol	Pengambilan ekstrak menggunakan corong buchner Penyaringan dengan pompa vakum	Maserasi II menggunakan 400 mL etanol	

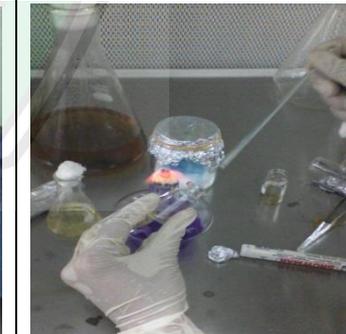
		
<p>Ekstrak II hasil 400 mL etanol</p>	<p>Ekstrak III hasil 200 mL etanol dan 200 mL aquades</p>	<p>Perbandingan ekstrak etanol jeringau</p>
		
<p>Pemekatan ekstrak menggunakan <i>rotary evaporator</i></p>	<p>Pemindahan ekstrak kasar dari labu ke gelas vial</p>	
		
<p>Ekstrak pekat/kasar etanol, kloroform, dan n-heksana rimpang jeringau</p>	<p>Penimbangan untuk mencari nilai rendemen</p>	<p>Penyimpanan di almari es (<i>freezer</i>)</p>

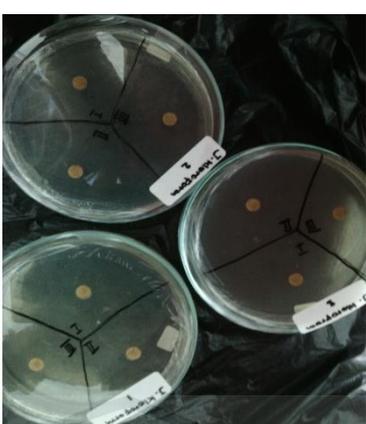
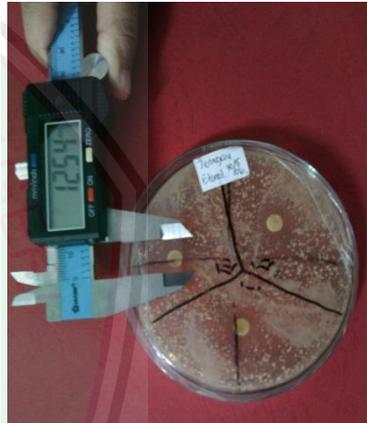
L.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan

		
Optimasi waktu @spektro	Inkubasi @inkubator	Divorteks agar larut sempurna
		
Sampel dan DPPH bereaksi (sebelum inkubasi)		
		
Sampel setelah inkubasi (Etanol, Kloroform, n-Heksana)		

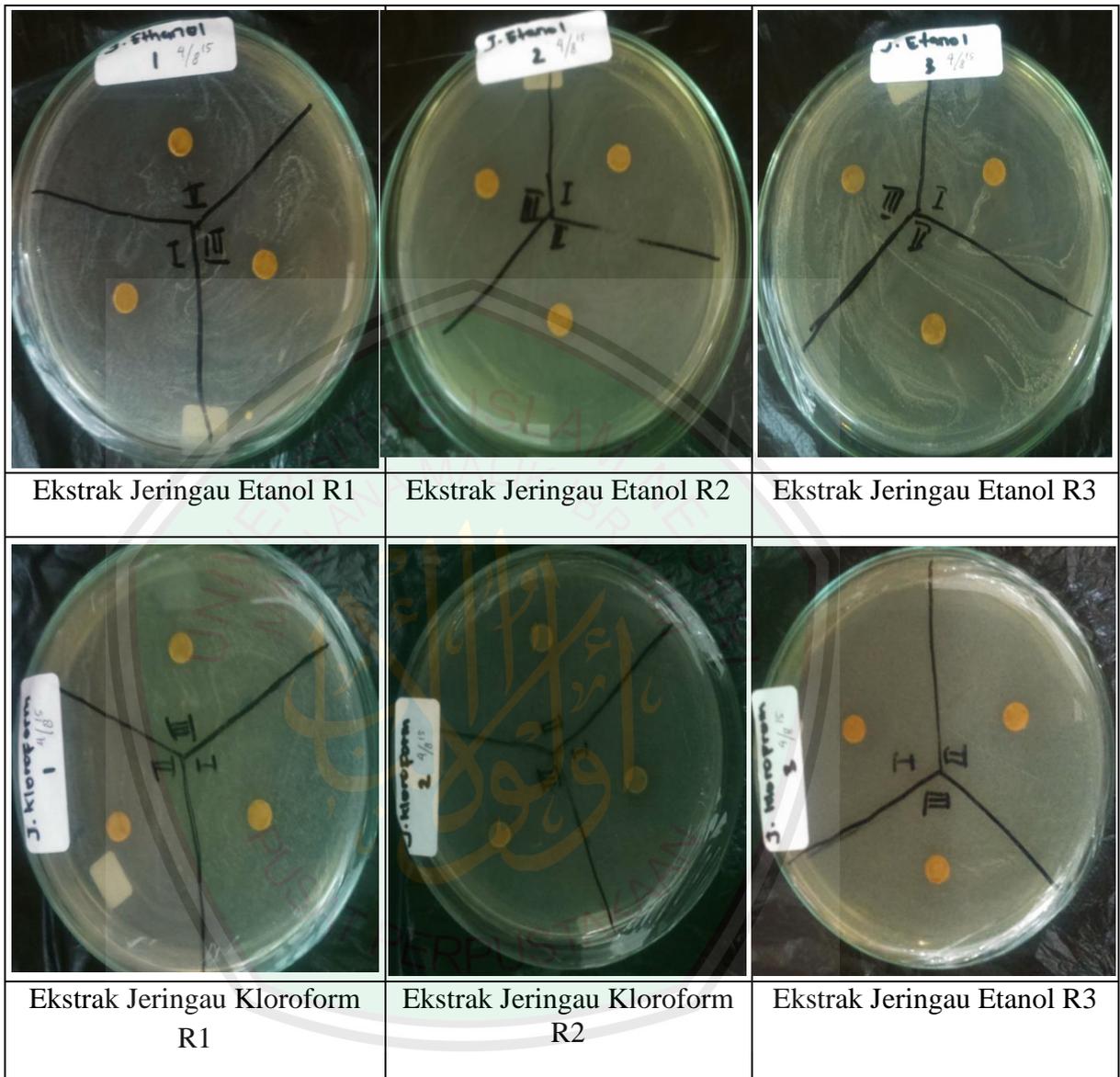
		
<p>Pembandingan (Vitamin C)</p>		<p>Pengukuran nilai absorbansi dengan spektrofotometer UV Vis</p>

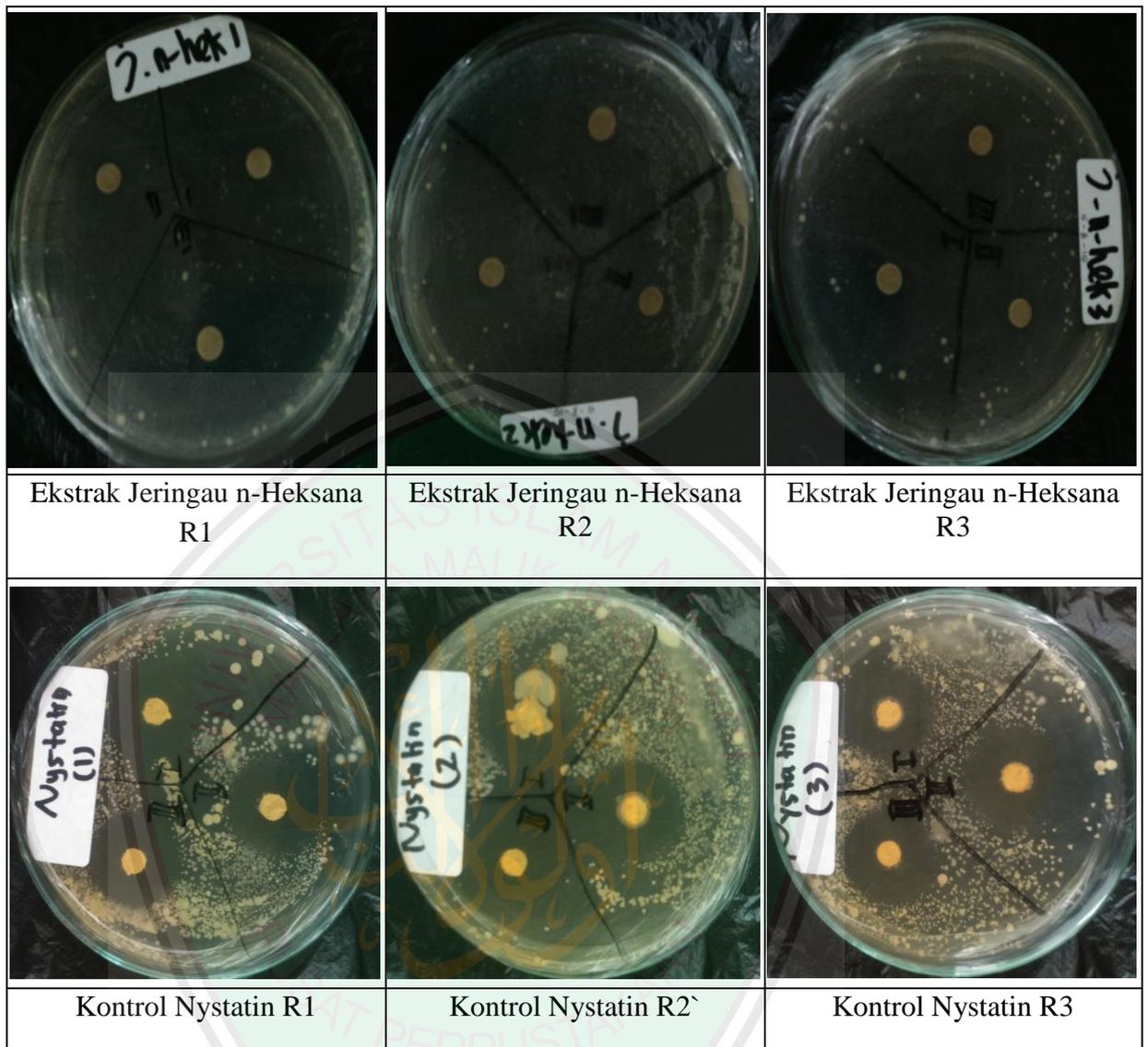
L.5.5 Uji Efektivitas Antifungi

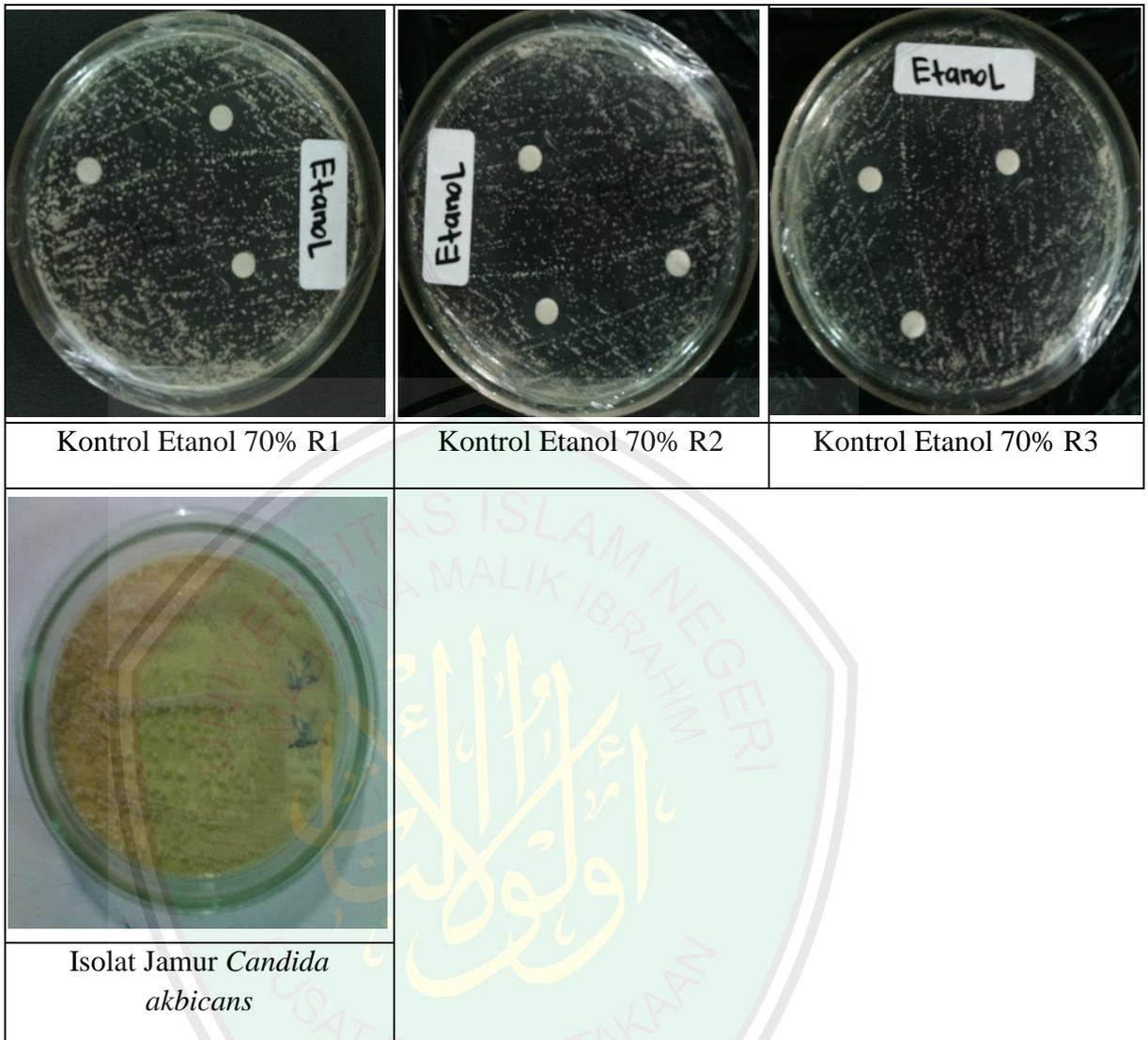
		
<p>Persiapan alat dan bahan</p>	<p>Sterilisasi Alat dan Bahan</p>	<p>Pembuatan Media SDB</p>
		
<p>Pembuatan Larutan Uji</p>	<p>Regenerasi Jamur</p>	<p>Pembuatan Suspensi Jamur</p>

		
Uji Zona Hambat dengan <i>paper disk</i>		Inkubasi 3 x 24 jam
		
Destruksi	Mencuci alat setelah didestruksi	Mengukur Diameter Zona Hambat

L.5.5.1 Uji Diameter ZOna Hambat; Metode Kirby-Baurer Inkubasi 3 x 24 jam



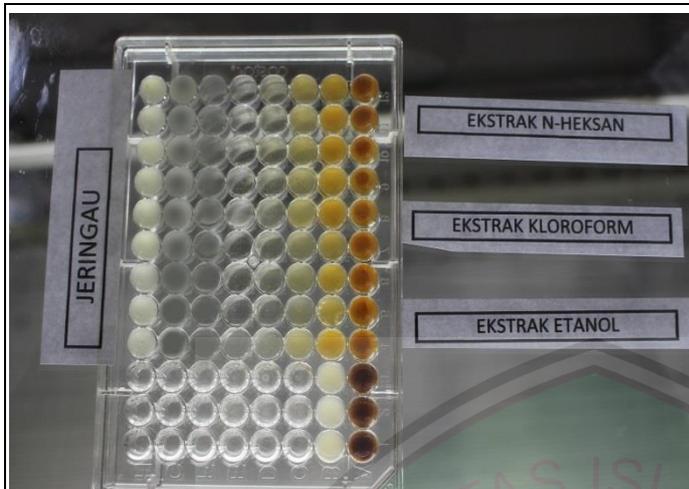




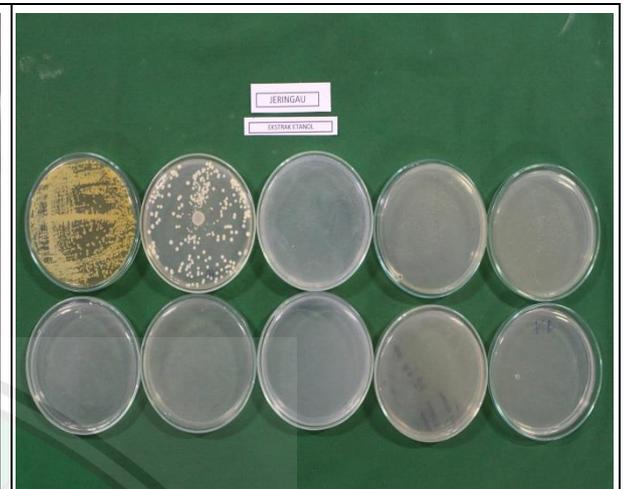
L.5.5.2 Proses Uji KHM-KBM @Lab.Biomedik FIK UMM

		
Pengenceran	Pengadukan dengan vortex	Penanaman
		
Inkubasi 18-24 jam	Pengamatan/Perhitungan Koloni	

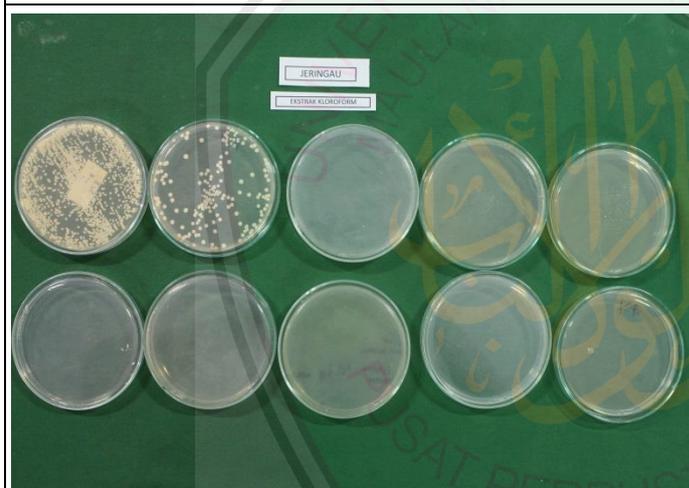
L.5.5.3 Hasil Uji KHM-KBM



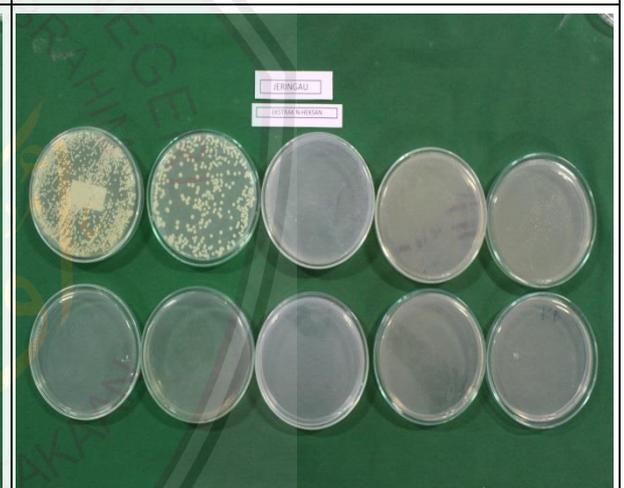
Metode dilusi cair



Penentuan KHM-KBM ekstrak J. etanol



Penentuan KHM-KBM ekstrak J. kloroform



Penentuan KHM-KBM ekstrak J. n-heksana

Lampiran 6. Lembar Bukti Konsultasi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933 Malang

BUKTI KONSULTASI

Nama Mahasiswa : MUHAMMAD NUR HASAN
NIM : 11620060
Jurusan/Fakultas : Biologi/Sains dan Teknologi
Dosen Pembimbing : Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Judul Skripsi : "Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi Secara *In Vitro*"

No.	Tanggal	Hal yang dikonsultasikan	Tanda Tangan
1.	23-02-2015	Pengajuan Judul Penelitian	1.
2.	12-03-2015	Pengajuan BAB I	2.
3.	31-03-2015	Revisi BAB I	3.
4.	13-04-2015	Pengajuan BAB II, III	4.
5.	18-05-2015	Revisi BAB II, III	5.
6.	05-06-2015	Seminar Proposal	6.
7.	22-06-2015	Konsultasi BAB I, II, III	7.
8.	07-07-2015	Revisi BAB I, II, III	8.
9.	31-07-2015	Acc BAB I, II, III	9.
10.	12-10-2015	Konsultasi BAB IV	10.
11.	14-10-2015	Revisi BAB IV	11.
12.	19-10-2015	Konsultasi BAB V	12.
13.	21-10-2015	Revisi BAB IV	13.
14.	26-10-2015	Konsultasi Abstrak dan Lampiran	14.
15.	29-10-2015	Revisi Abstrak dan Lampiran	15.
16.	30-10-2015	Acc Skripsi	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi



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



Certificate No. 030416

Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlaq, Keluasan Ilmu dan Kematangan Profesional



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933 Malang

BUKTI KONSULTASI

Nama Mahasiswa : MUHAMMAD NUR HASAN
NIM : 11620060
Jurusan/Fakultas : Biologi/Sains dan Teknologi
Dosen Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
Judul Skripsi : "Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)
dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan
Antifungi Secara *In Vitro*"

No.	Tanggal	Hal yang dikonsultasikan	Tanda Tangan
7.	22-05-2015	Konsultasi BAB I, II, III	1.
8.	25-05-2015	Revisi BAB I, II, III	2.
10.	23-10-2015	Konsultasi BAB I, II, III, IV	3.
11.	26-10-2015	Revisi BAB I, II, III, IV	4.
16.	30-10-2015	Acc Skripsi	5.

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi



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



Certificate No. E/004216

Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlaq, Keluasan Ilmu dan Kematangan Profesional

Lampiran 7. Surat Keterangan Determinasi Tanaman



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074/112/101.8/2015
 Sifat : Biasa
 Perihal : Determinasi Tanaman Jeringau

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MUHAMMAD NUR HASAN
 NIM : 11620060
 Instansi : FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
 UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman jeringau

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

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

2. Morfologi : Habitus: Herba, tahunan, tinggi ±75 cm. Batang: Basah, pendek, membentuk rimpang, putih kotor. Daun: Tunggal, benluk lanset, ujung runcing, tepi rata, pangkal memeluk batang, panjang ±60 cm, lebar ±5 cm, pertulangan sejajar, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk bongkol, ujung meruncing, panjang 20-25 cm, di ketiak daun, tangkai sari panjang ±2,75 mm, kepala sari panjang ±2,75 mm, kepala sari panjang ±0.5 mm, putik 1-1.5 mm, kepala putik meruncing, panjang ±0.5 mm, mahkota bulat panjang, panjang 1-1.5 mm, putih. Akar: Serabut, coklat.
3. Nama Simplisia : Acori Rhizorna, Calami Rhizorna/ Rimpang Jeringau.
4. Kandungan kimia : Rimpang dan daun *Acorus calamus* mengandung saponin dan flavonoida. Rimpangnya mengandung minyak atsiri (asaron), glikosida (akorina), akoretina, kholina, kalameona, isokalamendiol, epi-isokalamendiol, siobunona, akorona, koronona, trimetil amina, saponin, lendir, aneurin, dan vitamin C.
5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).
6. Daftar Pustaka
- Anonim. <http://www.idionline.com/Jeringau>, diakses tanggal 11 Desember 2005.
 - Anonim. <http://www.plantamor.com/Dlingu>, diakses tanggal 12 Mei 2010.
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/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. Basim RM Apt. M.Kes.
 NIP.196111021991031003